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

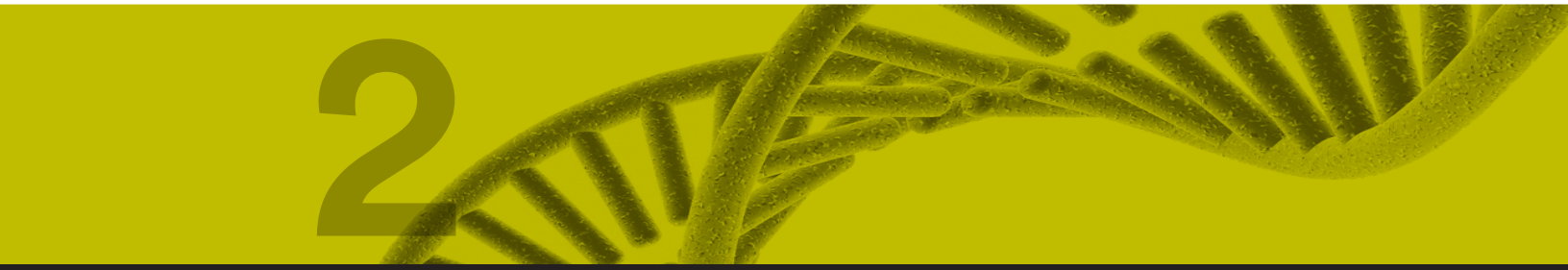
홈페이지 바로가기 →
문서 라이브러리 바로가기 →
시공사례 바로가기 →
문의하기 →

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
MDA2SAL96

- EN **Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella***
- FR **Kit de détection moléculaire *Salmonella* version 2**
- DE **Molekulare Detektion 2 - *Salmonellen* Nachweis**
- ES **Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella***
- PT **Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2**
- PL **Molekularny test do wykrywania 2 - *Salmonella***
- JA **分子検出アッセイ2- *サルモネラ属菌***
- ZH **沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌* (Simplified)**
- TH **ชุดทดสอบเชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2**
- KO **Molecular Detection Assay 2 - *살모넬라***



Salmonella

Issue Date: 2026-02

NEOGEN®

Product Instructions

Neogen® Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella*

Product Description and Intended Use

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

The Neogen® Molecular Detection Assays use 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, 3].

The Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* is intended for use in a laboratory environment by professionals trained in laboratory techniques. Neogen has not documented the use of this product in industries other than food or beverage. For example, Neogen has not documented this product for testing pharmaceutical, cosmetics, clinical or veterinary samples. The Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* 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 - *Salmonella* with Buffered Peptone Water (BPW) ISO as 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 - *Salmonella* 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 - *Salmonella* Reagent Tubes	Green tubes	96 (12 strips of 8 tubes)	Lyophilized specific amplification and detection mix	Ready to use
Extra caps	Green caps	96 (12 strips of 8 caps)		Ready to use
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., BPW ISO. Do not use water as a NC.

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 - *Salmonella*. Retain the safety instructions for future reference.

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

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 - *Salmonella* in the diagnosis of conditions in humans or animals.

The user must train its personnel in current proper testing techniques: for example, Good Laboratory Practices[4], ISO 7218:2024[5], or CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)[6].

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 - *Salmonella* as indicated on the package and in the product instructions.
- Always use the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* by the expiration date.
- Use the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* with food, feed and food process environmental samples that have been validated internally or by a third party.
- Use the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* 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: 700002040 | RS96010NB, 700002011 | RS9604NB 700002003 | SSL10NB, 700002004 | SSL10NB2G, 700002213 | HS10NB, and 700002002 | HS10NB2G.

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, and national regulations.
- 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 environmental contamination:

- Follow local, regional, and national regulations for disposal requirements.

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, reagent tube rack, 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 fitness for purpose of the method during implementation, Neogen has developed the Neogen Molecular Detection Matrix Control kit (also called an amplification control in ISO 24914:2026[7]). Use the Matrix Control to assess matrix interference with the results of the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* during validation and verification. Follow the ISO 16140-3:2021[8] standard and / or your organization's quality assurance program to determine the representative number of samples required when verifying the method performance and defining the scope of its application in your laboratory. Routine use of the Neogen Molecular Detection Matrix Control is not required once the method has been verified and the laboratory scope of application is established. Follow your organization's quality assurance program to determine on a case-by-case basis the need for the Neogen Molecular Detection Matrix Control and its frequency of use during routine testing.

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.

For Neogen's full terms and conditions, please visit: https://www.neogen.com/en/terms-and-conditions/

Storage and Disposal

Store the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* at 2-8°C. 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 for no longer than 60 days.

Do not use Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* past the expiration date. Expiration date and lot number are noted on the outside label of the box. After use, the enrichment medium and the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* tubes can potentially contain pathogenic materials. When testing is complete, follow local, regional, and national regulations 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, reagent tube rack, 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 training, as described in the "Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System" document[9].

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

Table 3 for enrichment protocols according to AOAC® *Official Method of Analysis*℠ **2016.01** and AOAC® *Performance Tested*℠ Certificate **#091501**.

Table 4 for enrichment protocols according to NF VALIDATION certificate **3M 01/16 -11/16**.

Sample Enrichment

Tables 2, 3 and 4 present guidance for general enrichment protocols for food, feed 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.

Foods

1. Allow BPW ISO enrichment medium to equilibrate to ambient laboratory temperature or 41.5 ± 1°C depending upon matrices tested. See Tables 2, 3 or 4.
2. Aseptically combine the enrichment medium and sample.
3. Homogenize thoroughly by blending, stomaching, or hand mixing for 2 ± 0.2 minutes or until all lumps are completely dissolved and the enrichment suspension is homogeneous[13].
   a. For all meat and highly particulate samples, the use of filter bags is recommended.
   b. For matrices which swell in water and are highly viscous (e.g., cereals, starches), it is suggested to make further dilutions (> 1:10) until viscosity is suitably reduced or add sterile 1% (w/v) alpha-amylase to BPW (ISO)[13].
   c. For large sample sizes of milk powder and cereals, add the sample slowly to the liquid with frequent mixing to avoid clumps.
4. Incubate as outlined in the appropriate protocol table (see Tables 2, 3 or 4).

Environmental Samples

Sample collection devices can be a sponge hydrated with a neutralizing solution to inactivate the effects of the sanitizers. Neogen recommends the use of a biocide-free cellulose sponge. Neutralizing solution can be Dey-Engley (D/E) neutralizing broth or Letheen Broth. It is recommended to sanitize the area after sampling.

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.

The recommended size of the sampling area to verify the presence or absence of the pathogen on the surface is at least 100 cm^2 (10 cm x 10 cm or 4" x 4"). When sampling with a sponge, cover the entire area going in two directions (left to right then up and down) or collect environmental samples following your current sampling protocol or according to the FDA BAM[1], USDA FSIS MLG[2] or ISO 18593:2018[10] guidelines.

It is the user's responsibility to validate alternate sampling protocols or dilution ratios to ensure this test method meets the user's criteria.

1. Pre-warm BPW ISO enrichment medium to 41.5 ± 1°C depending upon matrices tested. See Tables 2, 3 or 4.
2. Aseptically combine the enrichment medium and sample according to Table 2, 3 or 4. For all meat and highly particulate samples, the use of filter bags is recommended.
3. Homogenize thoroughly by blending, stomaching, or hand mixing for 2 ± 0.2 minutes. Incubate as outlined in the appropriate protocol table. See Table 2, 3 or 4.

Sampling Device

1. For cloth- follow FSIS guidance outlined in the *Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimming and Bench Trim*[14], by sampling the matrix with the cloth for 90 s, 45 s per side.
2. For mitt- follow the guidance as outlined in USDA Agricultural Research Service No Objection Letter[15] by prewetting the mitt with 25 mL of nBPW, and scrub the matrix for 15 s on one side. Flip the mitt over and scrub for additional 15 s. Fold the mitt in half and half again and place it in the sample bag.
3. Allow BPW ISO enrichment medium to equilibrate to 41.5 ±1°C.
4. Aseptically combine the enrichment medium and sample, ensuring the sampling device is submerged.
5. Mix by hand or stomach all samples for at least 30 seconds. Ensure the sampling device is pushed to the bottom of the bag, submerged in growth media and incubate as outlined in the appropriate protocol table (see Table 2 or 3).

Table 2. General enrichment protocols.

Sample Matrix	Sample Size	Enrichment Broth Volume	Enrichment Temperature (± 1°C)	Enrichment Time (hours)	Sample Analysis Volume (µL)[a]
Protocol 1 Processed food products (excluding egg powders, and products specified in the other protocols)[b]	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-26	20
Protocol 2 Raw and unprocessed foods, egg powders, animal feed, and environmental samples[c]	25 g	225 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	18-26	20
Protocol 3 Powdered dairy products (includes infant formula, soy based infant formula)	25 g	225 mL BPW ISO	37	20-26	20
Protocol 4 Cocoa based products (powder, chocolates, confectionaries, etc.)	25 g	225 mL of sterile 100 g/L non-fat dry milk with 0.002% brilliant green dye[d,e,f]	37	24-30	20
Protocol 5 Other including: spices, aromatic herbs, concentrates, instant teas and coffees, bouillon cubes	25 g	235 mL 2X BPW ISO with 0.5% K_2SO_3 + 240 mL of sterile 100 g/L non-fat dry milk[d,g,h]	37	24-30	10
Protocol 6 Walnuts or nut mixes containing walnuts (this protocol is appropriate for other nuts including pecans, almonds, pistachios, cashews, chestnuts, macadamia nuts, Brazil nuts, soy nuts and peanuts)	25 g	225 mL of sterile 100 g/L non-fat dry milk[d]	37	18-24	20
Protocol 7 Boot socks	1 pair – 2 boots	225 mL 2X BPW ISO[i]	37	20-26	10
Protocol 8 Boot socks (with high concentration of calcium)	1 pair – 2 boots	225 mL 2X BPW ISO (after enrichment transfer 1 mL to 9 mL BPW ISO or 100 µL to 9.9 mL BPW ISO)[i,j]	37	20-26	10
Protocol 9 Sampling device (raw beef trim, raw poultry parts, raw poultry carcass, raw pork trim)	1 cloth or 1 mitt	200 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	10-24	20

(a) Volume of sample transferred to Lysis Solution tubes. Refer to step 4.7 of Lysis section.

(b) Examples of products to be tested with Protocol 1: ready to use meals, deli salads, custard.

(c) Examples of products to be tested with Protocol 2: raw meats, frozen vegetables, all cheeses, fermented milk, raw salad (lettuce, Batavia).

(d) Non-fat UHT milk can be substituted for non-fat dry milk.

(e) 0.45 mL of 1% aqueous brilliant green dye solution per 225 mL non-fat milk, resulting in a final concentration of 0.002% (0.02 g/L) brilliant green dye.

(f) To prepare sterile non-fat dry milk, suspend 100 g dehydrated non-fat dry milk in 1 L of distilled or purified water. Swirl until dissolved. Autoclave for 15 minutes at 121°C. Store at 2–30°C[11].

(g) 5 g of K_2SO_3 per 1000 mL BPW ISO, resulting in a final concentration of 0.5% K_2SO_3.

(h) 240 mL 100 g/L sterile non-fat dry milk must be added to sterilized 235 mL 2X BPW ISO with 0.5% K_2SO_3.

(i) Prepared at double strength.

(j) When the boot swabs are with high concentration of calcium a 1:10 or 1:100 dilution from the enriched media is required: transfer 1 mL of the enriched media to 9 mL BPW ISO (1:10 dilution) or 100 µL to 9.9 mL BPW ISO (1:100 dilution).

If using an optional secondary enrichment step, e.g. Rappaport Vassiliadis Medium, it is required to perform a 1:2 dilution (1 part sample enrichment into 1 part sterile enrichment broth) or simply transfer 10 µL of the secondary enrichment to the Neogen Lysis Solution tubes. If using Tetrathionate (TT) Broth, transfer 20 µL of the secondary enrichment to the Neogen Lysis Solution tubes, and do not vortex TT enrichment or pipette from the bottom of enrichment tube to avoid transfer of any precipitate.

Specific Instructions for Validated Methods

AOAC® *Official Methods of Analysis℠* 2016.01

AOAC® *Performance Tested℠* Certificate #091501

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 091501

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

Table 3. Enrichment protocols according to AOAC OMA℠ 2016.01 and AOAC PTM℠ Certificate #091501. Volume of sample transferred to Neogen Lysis Solution tubes is 20 µL, except for boot socks[a].

Sample Matrix	Sample Size	Enrichment Broth Volume	Enrichment Temperature (± 1°C)	Enrichment Time (hours)
Raw ground beef	25 g	225 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	10-24
	325 g	975 mL BPW ISO (pre-warmed)		
Raw ground chicken	25 g	225 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	10-24
	325 g	975 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	14-24
Cooked breaded chicken	325 g	2,925 mL BPW ISO	37	18-24
Dry dog food	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24
	375 g	1,500 mL BPW ISO		
Black pepper, Raw whole shrimp, Raw bagged spinach, Pasteurized processed American cheese	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24
Chicken carcass rinse	30 mL	30 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	18-24
Chicken carcass sponge	1 sponge	50 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	18-24
Instant non-fat dry milk	25 g	225 mL BPW ISO	37	20-24
Cocoa powder	25 g	225 mL BPW ISO	37	24-28
Pasteurized liquid whole egg	100 mL	900 mL BPW ISO	37	18-24
Spent sprout irrigation water	375 mL	3,375 mL BPW ISO	37	18-24
Creamy peanut butter	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24
	375 g	3,375 mL BPW ISO		
Dried cannabis flower, dried hemp flower[b]	10 g	90 BPW-ISO	41.5	28-32
Boot socks[a]	1 pair – 2 boots	225 mL 2X BPW ISO [c]	37	20-26

Boot socks (with high concentration of calcium)[a]		1 pair – 2 boots	225 mL 2X BPW ISO after enrichment transfer 1 mL to 9 mL BPW ISO or 100 µL to 9.9 mL BPW ISO) [c, d]	37	20-26
Sampling device (raw beef trim, raw pork trim)		1 cloth[e]	200 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	10-24
Sampling device (raw poultry parts, raw poultry carcass)		1 mitt [e]	200 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	10-24
Environmental	Sealed concrete	1 sponge	225 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	18-24
	Stainless steel	1 swab	10 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	18-24
	Sealed ceramic tile	1 sponge	50 mL BPW ISO (pre-warmed)	41.5	18-24

Sample Matrix	Sample Size	Enrichment Broth Volume	Enrichment Temperature (± 1°C)	Enrichment Time (hours)	Secondary Enrichment Medium (mL)	Secondary Enrichment Temperature (±1°C)	Secondary Enrichment Time (hours)
Raw shrimp, head on	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24	R-V R10: 0.1 mL into 10 mL[a]	41.5	4-24

(a) Transfer 10 µL of enriched sample to Lysis Solution tubes. Refer to step 4.7 of Lysis section.
(b) Dried cannabis flower (>0.3% THC) and dried hemp flower (≤0.3%THC)
(c) Prepared at double strength.
(d) When the boot swabs are with high concentration of calcium a 1:10 or 1:100 dilution from the enriched media is required: transfer 1 mL of the enriched media to 9 mL BPW ISO (1:10 dilution) or 100 µL to 9.9 mL BPW ISO (1:100 dilution).
(e) Pre-moisten with 25 mL of nBPW

NF VALIDATION by AFNOR Certification

3M 01/16 -11/16
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
http://nf-validation.afnor.org/en

For more information about end of validity, please refer to NF VALIDATION certificate available on the website mentioned above.

NF VALIDATION certified method in compliance with ISO 16140-2:2016[12] in comparison to ISO 6579:2017[3].

Scope of the validation: All human food products, production environmental samples (including primary production samples), pet food and animal feed, by performing validation assays on a broad range of foods.

Sample preparation: Samples should be prepared according to EN ISO 6579:2017[3] and EN ISO 6887[13].

Software version: See certificate.

Table 4. Enrichment protocols according to NF VALIDATION certified method 3M 01/16 -11/16.

Protocol	Sample size	Enrichment broth volume	Enrichment temperature (+1°C)	Enrichment Time (hours)	Sample Analysis Volume (µL)[a]
Protocol 1: • Broad range processed food products, (excluding egg powder, processed fruits and vegetables and products specified in the other protocols) • All fish and raw seafood products • Pet food and animal feed • Primary production (non-fecal)	25 g	225 mL BPW ISO	37	18 - 26	20
Protocol 2: • Broad range of raw and unprocessed food (excluding raw fish and raw seafood, and products specified in the other protocols) • Egg powders • All fruits and vegetables • Food production environment samples	25 g or 1 wipe or 1 swab	225 mL pre-warmed BPW ISO	41.5	18 - 26	20
Protocol 3: • Powdered dairy products	25 g	225 mL BPW ISO	37	20 - 26	20
Protocol 4: • Cocoa based products containing more than 20% cocoa	25 g	225 mL non-fat UHT milk + 0.002% Brilliant green	37	24 - 30	20
Protocol 5: • Spices, aromatic herbs, concentrates, teas, coffees, culinary preparation	25 g	235 mL 2 x BPW ISO + K_2SO_3 0.5% + 240 mL of non-fat UHT milk	37	24 - 30	10
Protocol 6: • Raw meat	25 g	225 mL pre-warmed BPW ISO	41.5	10 - 24	20
Protocol 7: • Primary production (fecal)	1 boot sock	100 mL Tetrathionate broth	37	22 - 24	20
	25 g	225 mL Tetrathionate broth			
Protocol 8: • Infant formula, infant cereals, dairy powders without probiotics[b]	375 g	3375 mL pre-warmed BPW ISO	37	20 - 26	20
Protocol 9: • Infant formula, infant cereals, dairy powders with probiotics[b]	375 g	3375 mL pre-warmed BPW ISO + vancomycin (10 mg/L)	37	20 - 26	20

(a) Volume of sample transferred to Lysis Solution tubes. Refer to Step 4.7 of **Lysis** section.

(b) For large sample sizes of powders and cereals, add the sample slowly to the liquid with frequent mixing to avoid clumps.

NOTES:

- Samples larger than 25 g have not been tested except in protocol 8 and 9 in the NF VALIDATION study.
- The short protocols of detection are sensitive to conditions of incubation. It is required to follow the conditions of temperature indicated in the technical specification. User must verify that pre-warming of the enrichment broth reaches the temperature required prior to incubation. The time of preparation of the samples, delay between the end of the step of pre-warming of the enrichment broth and the beginning of the step of incubation of the food sample, should not exceed 45 minutes. Using a ventilated incubator for incubation is recommended.
- **For transfer of sample from Tetrathionate (TT) Broth enrichments to Neogen Lysis Tube, do not vortex TT enrichment or pipette from the bottom of enrichment tube to avoid transfer of any precipitate. Transferring of precipitate can lead to invalid results.**
- The recommended protocol interruption points are after enrichment or after sample lysis. Enrichment broth or sample lysate can be stored at 2-8°C for up to 72 hours. After removing the enrichment broth from storage, resume testing from Step 1 in the **Lysis** section. After removing the sample lysate from storage, resume testing from Step 8 in the **Lysis** section.

Preparation of the Neogen® Molecular Detection Speed Loader Tray

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

Two Neogen Molecular Detection Heat/Chill Block Inserts are required for this procedure. Both inserts are the same product (700000145) but are used for different functions.

For clarity within the procedure, the insert used for the heating step will be referred to as the Molecular Detection Heat Block Insert, and the insert used for the cooling step will be referred to as the Molecular Detection Chill Block Insert. These designations are used only to distinguish their roles and do not indicate separate products.

Preparation of the Neogen® Molecular Detection Chill Block Insert

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

Preparation of the Neogen® Molecular Detection Heat Block Insert

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

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

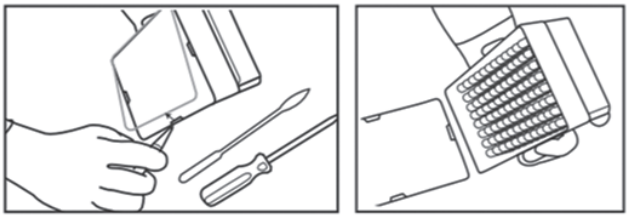
Preparation of the Neogen® Molecular Detection Instrument

1. Launch the Neogen® Molecular Detection Software and log in. Contact your Neogen Food Safety representative to ensure you have the most updated version of the software.
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

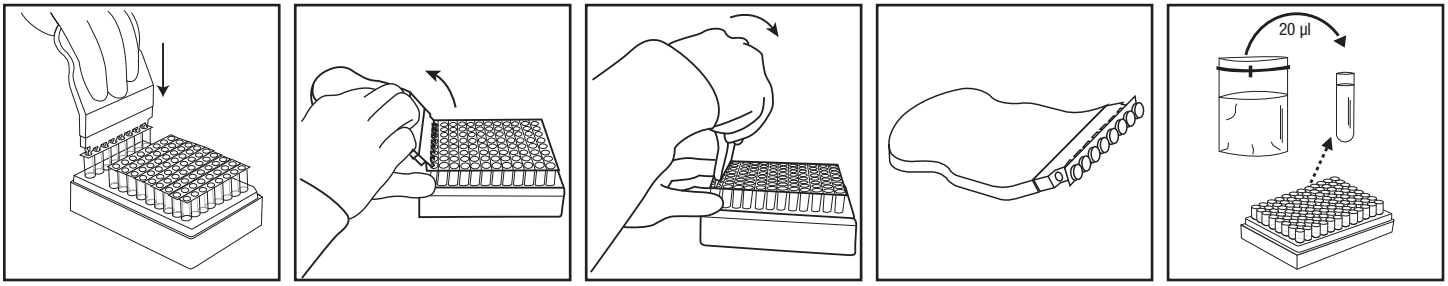
Remove the bottom of Neogen Lysis Solution Rack with a screwdriver or spatula before placing in in the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert.



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 tube in a 37 ± 1°C incubator for 1 hour or place them in a dry double block heater for 30 seconds at 100 ± 1°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.
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 Neogen Lysis Solution tube number. Select the number of individual Neogen Lysis Solution 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 tubes 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:

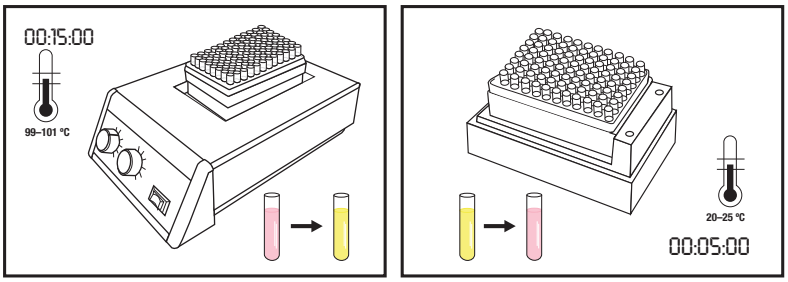
     Transfer each enriched sample into an individual Neogen Lysis Solution tube **first**. Transfer the NC **last**.

   - 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 Agitate the enrichment bag before collecting the sample from the filtered side when working with viscous samples.
   - 4.7 Transfer 20 µL of sample into a Neogen Lysis Solution tube unless otherwise indicated in the protocol table (example protocol 5 and secondary enrichment in RVS or when using environmental samples with neutralizing buffer).



5. Repeat step 4.4 to 4.7 until each individual sample has been added to a corresponding Neogen Lysis Solution tube in the strip.
6. When all samples have been transferred, transfer 20 µL of NC (sterile enrichment medium e.g. BPW) into a 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. Heating step: 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. Cooling step: Remove the uncovered rack of Neogen Lysis Solution tubes from the heating block and allow to cool in the Neogen Molecular Detection Chill Block Insert at least 5 minutes and a maximum of 10 minutes. The Neogen Molecular Detection Chill Block Insert, used at ambient temperature, should sit directly on the laboratory bench. During cooling, 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.

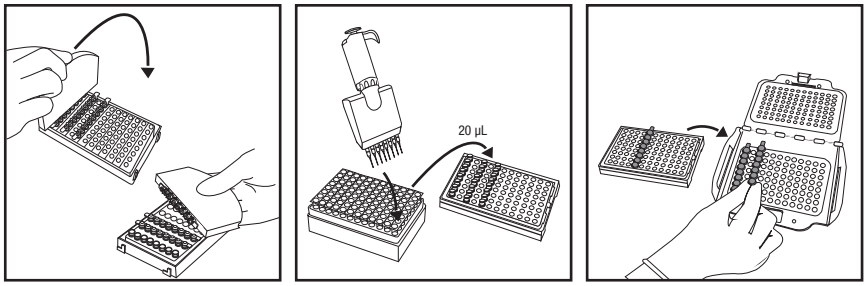


Amplification

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

Transfer each sample lysate into individual Reagent tubes **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 - *Salmonella* Reagent Tube – one tube strip at a time. Discard cap.
   5.1 **Transfer 20 µL of sample lysate from the upper 1/2 of the liquid (avoid precipitate) in the Neogen Lysis Solution tube into corresponding Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* 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 - *Salmonella* Reagent Tube in the strip.
   5.3 Cover the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* Reagent Tubes with the provided extra caps and use the rounded side of the Neogen Molecular Detection Cap/Decap Tool-Reagent to apply pressure in a back and forth motion ensuring that the cap is tightly applied.
   5.4 Repeat steps 5.1 to 5.3 as needed, for the number of samples to be tested.
   5.5 When all sample lysates have been transferred, repeat steps 5.1 and 5.3 to transfer 20 µL of NC lysate into a Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* 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 System 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 - *Salmonella* Reagent Tube, Neogen Reagent Control, Reagent, 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 analyzed 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[1,2,3], beginning with transfer from the primary enrichment to secondary enrichment broth(s), followed by subsequent plating and confirmation of isolates using appropriate biochemical and serological methods.

NOTE: Even a negative sample will not give a zero reading as the system and Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* 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.

Table 5. Symbols and info for various software results.

Well Type	Well Result Symbol	Result	Interpretation
Sample		Positive	The sample is presumptive positive for the target pathogen.
Sample		Negative	The sample is negative for the target pathogen.
Sample		Inhibited*	The sample matrix was inhibitory to the assay. A re-test may be required.
Sample		Inspect	The presence or absence of the target pathogen was indeterminate. A re-test may be required.
Sample		Error*	No bioluminescence was detected. A re-test may be required.

*Refer to the run report for additional details on the results. If needed, contact your local Neogen representative for troubleshooting assistance.

Confirmation of Results According to the NF VALIDATION Certified Method

In the context of the NF VALIDATION, all samples identified as positive by the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* must be confirmed by one of the following tests:

Option 1: Using the ISO 6579[3] standard starting from the buffered peptone water[3] enrichment.

Option 2: Implementing a confirmation method consisting of the following: Transfer 0.1 mL of the BPW ISO[3] enrichment or Tetra Thionate broth enrichments (primary production samples) into 10 mL of RVS broth. Incubate for 24 ± 3 hours at 41.5°C. Streak onto Xylose Lysine Deoxycholate (XLD)[3] agar or onto a chromogenic agar specific for *Salmonella*. Perform a latex agglutination using Oxoid *Salmonella* latex test directly on isolated colonies.

Option 3: Using nucleic acid probes as described in the EN ISO 7218:2024[5] standard, performed on isolated colonies, from XLD or chromogenic agar (see Options 1 or 2). This test must not be performed using the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella*.

Option 4: Using any other method certified by NF VALIDATION, the principle of which must be different from Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella*. The complete protocol described for this second validated method must be used. All steps prior to the start of confirmation must be common to both methods.

In the event of discordant results (presumptive positive with the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella*, non-confirmed by one of the means described above, and in particular for the latex agglutination test), the laboratory must follow the necessary steps to ensure the validity of the results obtained.

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.

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

1. To store a heat-treated lysate, re-cap the lysis tube with a clean cap (see **Lysis** section, 4.5).
2. Store at 4 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 heating 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. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.10. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and siluriformes (fish) products and carcass and environmental sponges. Effective Date: 2 January 2019.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
7. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
8. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
9. 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.
10. ISO 18593:2018. Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling.
11. US Food and Drug Administration – *Bacteriological Analytical Manual*, Medium M111: Nonfat Dry Milk (Reconstituted). January 2011.
12. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain - part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
13. ISO 6887 (all parts). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
14. Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimmings and Bench Trim | Food Safety and Inspection Service https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-notice/05-23
15. USDA/FSIS Letter of No Objection (NOL) for the MicroTally® Mitt food surface sampler. https://microtally.com/wp-content/uploads/2025/01/Poultry-Mitt-NOL.pdf

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 2026. All rights reserved.
Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
All other trademarks are the property of their respective companies.

© 2026, Neogen. Tous droits réservés.
Neogen est une marque de commerce de Neogen.
Toutes les autres marques de
commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.
FS00869B

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

NEOGEN®

Instructions relatives au produit

Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen® version 2

Description et utilisation du produit

Le Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen® version 2 est utilisé avec le système de détection moléculaire Neogen® pour la détection rapide et spécifique après enrichissement de *Salmonella* dans des échantillons d'aliments, d'aliments pour animaux et d'échantillons environnementaux de transformation des aliments, après enrichissement.

Les kits de détection moléculaire Neogen® utilisent la technique LAMP (amplification isotherme médiée par des boucles) afin d'amplifier rapidement les séquences d'acide nucléique avec une grande spécificité et sensibilité, 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'analyse. Les résultats présumés positifs doivent être confirmés par la méthode de votre choix ou en utilisant une méthode conforme aux réglementations locales[1, 2, 3].

Le Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 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 Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 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 alimentaires et microbiennes déterminés pour répondre aux critères de l'utilisateur.

Neogen a évalué le Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 en utilisant de l'eau peptonnée tamponnée (BPW) ISO comme bouillon d'enrichissement.

L'instrument de détection moléculaire Neogen® est conçu pour être utilisé avec des échantillons traités thermiquement pendant l'étape de lyse de l'analyse, 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 Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 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 Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen® version 2	Tubes verts	96 (12 barrettes de 8 tubes)	Mélange spécifique lyophilisé pour l'amplification et la détection	Prêts à l'emploi
Bouchons supplémentaires	Bouchons verts	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, par exemple BPW ISO. Ne pas utiliser d'eau comme NC.

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 Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2. 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 Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 pour diagnostiquer des pathologies chez les humains ou les animaux.

L'utilisateur doit former son personnel aux techniques de test actuelles appropriées : par exemple, Good Laboratory Practices[4], ISO 7218:2024[5] ou Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) du CDC[6].

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 Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 conformément aux indications sur l'emballage et aux instructions relatives au produit.
- Toujours utiliser le Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 avant la date de péremption.
- Utiliser le Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 avec les échantillons d'aliments, d'aliments pour animaux et des échantillons environnementaux de transformation alimentaire qui ont été validés en interne ou par une tierce partie.
- N'utiliser le Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 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 Neogen® pour la manipulation des échantillons comprenant un tampon neutralisant avec complexe de sulfonate d'aryle : 700002040 | RS96010NB, 700002011 | RS9604NB, 700002003 | SSL10NB, 700002004 | SSL10NB2G, 700002213 | HS10NB et 700002002 | HS10NB2G.

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 d'enrichissement incubés et les équipements 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 réglementations locales, régionales et nationales en vigueur.
- 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).

Pour réduire les risques associés à la contamination environnementale :

- Respecter les réglementations locales, régionales et nationales en matière de mise au rebut.

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 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 de l'ADN.

Afin de réduire les risques associés à un faux positif :

- Ne jamais ouvrir les tubes de réactifs après l'amplification.
- Toujours éliminer les tubes contaminés en les faisant tremper dans une solution d'eau de Javel 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 **www.neogen.com** pour obtenir davantage d'informations ou contacter votre représentant ou distributeur Neogen.

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.

Afin d'aider les clients à évaluer l'adéquation de la méthode à l'usage prévu lors de sa mise en œuvre, Neogen a développé le kit Contrôle de matrice pour détection moléculaire Neogen (également appelé « contrôle d'amplification » dans la norme ISO 24914:2026[7]). Utiliser le contrôle de matrice pour évaluer l'interférence de la matrice avec les résultats du test de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 lors de la validation et de la vérification. Respecter la norme ISO 16140-3:2021[8] et/ou le programme d'assurance qualité de votre établissement afin de déterminer le nombre représentatif d'échantillons requis au moment de la vérification des performances de la méthode et de la définition de son champ d'application au sein de votre laboratoire. L'utilisation systématique du contrôle matriciel de détection moléculaire Neogen n'est pas requise une fois que la méthode a été vérifiée et que le champ d'application du laboratoire a été établi. Suivre le programme d'assurance qualité de votre établissement afin de déterminer au cas par cas la nécessité du contrôle matriciel de détection moléculaire Neogen et sa fréquence d'utilisation lors des tests de routine.

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

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.

Pour consulter l'intégralité des conditions générales de Neogen, veuillez vous rendre sur : https://www.neogen.com/en/terms-and-conditions/

Stockage et mise au rebut

Conserver le Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 à une température comprise entre 2 et 8 °C. 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. Ne pas conserver plus de 60 jours.

Ne pas utiliser le Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 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 Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 contiennent des éléments pathogènes. Une fois les analyses terminées, respecter les réglementations locales, régionales et nationales relatives à 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.

Désinfecter régulièrement les paillasses et le matériel de laboratoire (pipettes, outils d'ouverture/de fermeture, portoirs à tubes de réactif, etc.) à l'aide d'une solution d'eau de Javel à 1-5 % (v/v) ou d'une solution d'élimination de l'ADN.

L'utilisateur doit suivre la formation de qualification de l'opérateur 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 »[9].

Se référer à la section « Instructions spécifiques pour méthodes validées » pour connaître les exigences spécifiques :

Voir le tableau 3 pour les protocoles d'enrichissement selon l'AOAC® *Official Method of Analysis℠* **2016.01** et l'AOAC® *Performance Tested℠* Certificat **n° 091501**.

Voir le tableau 4 pour les protocoles d'enrichissement selon la méthode de certification NF VALIDATION **3M 01/16-11/16**.

Enrichissement de l'échantillon

Les tableaux 2, 3 et 4 fournissent des indications pour les protocoles généraux d'enrichissement des échantillons d'aliments, d'aliments pour animaux et environnementaux.

Il incombe à l'utilisateur de valider des protocoles d'échantillonnage ou des rapports de dilution alternatifs pour garantir que cette méthode d'analyse est conforme à ses critères.

Aliments

1. Laisser le milieu d'enrichissement BPW ISO s'équilibrer à la température ambiante du laboratoire ou à 41,5 ± 1 °C selon les matrices testées. Voir les tableaux 2, 3 ou 4.
2. Mélanger de manière aseptique le milieu d'enrichissement et l'échantillon.
3. Homogénéiser soigneusement par homogénéisation mécanique, homogénéisation péristaltique ou mélange manuel pendant 2 ± 0,2 minutes ou jusqu'à dissolution complète des agrégats et homogénéité de la suspension d'enrichissement[13].
   a. Pour tous les échantillons de viande et à forte teneur en particules, il est recommandé d'utiliser des sacs avec filtre.
   b. Pour les matrices qui gonflent dans l'eau et très visqueuses (p. ex., les céréales, les féculents), il est suggéré de procéder à des dilutions supplémentaires (> 1:10) jusqu'à réduction convenable de la viscosité ou d'ajouter de l'alpha-amylase stérile à 1 % (w/v) à la BPW (ISO)[13].
   c. Pour les échantillons de lait en poudre et de céréales de grande taille, ajouter lentement l'échantillon au liquide en mélangeant fréquemment pour éviter les grumeaux.
4. Incuber comme précisé sur le tableau du protocole approprié (voir les tableaux 2, 3 ou 4).

Échantillons environnementaux

Le dispositif de prélèvement d'échantillons peut être une éponge hydratée avec une solution neutralisante pour désactiver les effets des désinfectants. Neogen recommande d'utiliser une éponge en cellulose sans biocide. La solution neutralisante peut être un bouillon neutralisant Dey-Engley (D/E) ou un bouillon Letheen. Il est recommandé de désinfecter la zone après l'échantillonnage.

AVERTISSEMENT : si vous choisissez d'utiliser un tampon neutralisant contenant un complexe de sulfonate d'aryle 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.

La taille minimale recommandée pour la zone d'échantillonnage destinée à vérifier l'absence ou la présence du pathogène sur la surface est de 100 cm^2 (10 cm x 10 cm ou 4 po x 4 po). Lors de l'échantillonnage avec une éponge, couvrez toutes la zone dans les deux directions (de gauche à droite puis de haut en bas) ou prélevez des échantillons environnementaux en suivant votre protocole d'échantillonnage actuel ou selon les directives de la FDA BAM[1], USDA FSIS MLG[2] ou ISO 18593:2018[10].

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.

1. Préchauffer le milieu d'enrichissement BPW ISO à 41,5 ± 1 °C selon les matrices testées. Voir les tableaux 2, 3 ou 4.
2. Mélanger de manière aseptique le milieu d'enrichissement et l'échantillon conformément aux tableaux 2, 3 ou 4. Pour tous les échantillons de viande et les échantillons très granuleux, l'utilisation de sacs filtrants est recommandée.
3. Homogénéiser soigneusement par homogénéisation mécanique, homogénéisation péristaltique ou mélange manuel pendant 2 ± 0,2 minutes. Incuber comme indiqué dans le tableau du protocole correspondant. Voir les tableaux 2, 3 ou 4.

Dispositif d'échantillonnage

1. Pour la chiffonnette de prélèvement : suivre les recommandations du FSIS décrites dans le document *Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimming and Bench Trim*[14], en frottant la matrice avec la chiffonnette pendant 90 secondes, soit 45 secondes de chaque côté.
2. Pour le gant de prélèvement : suivre les consignes décrites dans la lettre de non-objection de l'Agricultural Research Service (ARS) de l'USDA[15] en humidifiant préalablement le gant avec 25 mL de nBPW, puis frotter la matrice pendant 15 secondes sur un côté. Retourner le gant et frotter pendant 15 autres secondes. Plier le gant en deux, puis encore en deux, et le placer dans la poche d'échantillonnage.
3. Laisser le milieu d'enrichissement BPW ISO s'équilibrer à 41,5 ± 1 °C.
4. Combiner de manière aseptique le milieu d'enrichissement et l'échantillon, en veillant à ce que le dispositif de prélèvement soit immergé.
5. Mélanger à la main ou au malaxeur tous les échantillons pendant au moins 30 secondes. S'assurer que le dispositif de prélèvement soit poussé au fond de la poche, immergé dans le milieu de culture, puis incuber comme indiqué dans le tableau de protocole approprié (voir le tableau 2 ou le tableau 3).

Tableau 2. Protocoles d'enrichissement généraux.

Matrice de l'échantillon	Taille de l'échantillon	Volume du bouillon d'enrichissement	Température d'enrichissement (± 1 °C)	Durée d'enrichissement (h)	Volume d'échantillon d'analyse (µL)[a]
Protocole 1 Produits alimentaires transformés (à l'exception des poudres d'œuf et des produits spécifiés dans d'autres protocoles)[b]	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-26	20
Protocole 2 Aliments crus et non transformés, poudres d'œufs, aliments pour animaux et échantillons environnementaux[c]	25 g	225 mL de BPW ISO (préchauffée)	41,5	18-26	20
Protocole 3 Produits laitiers en poudre (dont le lait maternisé et le lait maternisé à base de soja)	25 g	225 mL de BPW ISO	37	20-26	20
Protocole 4 Produits à base de cacao (en poudre, chocolats, confiseries, etc.)	25 g	225 mL de lait écrémé en poudre stérile à 100 g/L avec 0,002 % de coloration vert vif[d,e,f]	37	24-30	20
Protocole 5 Autres, dont : épices, herbes aromatiques, concentrés, thé et café instantanés, bouillon en cube	25 g	235 mL 2X BPW ISO avec 0,5 % K_2SO_3 + 240 mL de lait écrémé en poudre stérile à 100 g/L[d,g,h]	37	24-30	10

Protocole 6 Noix ou mélanges de fruits à coque contenant des noix (ce protocole s'applique aux autres fruits à coque, y compris aux noix de pécan, amandes, pistaches, noix de cajou, châtaignes, noix macadamia, noix du Brésil, graine de soja et cacahuète)	25 g	225 mL de lait écrémé en poudre stérile à 100 g/L[(d)]	37	18-24	20
Protocole 7 Chaussettes de prélèvement	1 paire – 2 chaussettes	225 mL 2X BPW ISO[(i)]	37	20-26	10
Protocole 8 Chaussettes de prélèvement (à forte concentration en calcium)	1 paire – 2 chaussettes	225 mL 2X BPW ISO (après enrichissement, transférer 1 mL dans 9 mL BPW ISO ou 100 µL dans 9,9 mL BPW ISO)[(i,j)]	37	20-26	10
Protocole 9 Dispositif d'échantillonnage (parures de bœuf cru, morceaux de volaille crus, carcasses de volaille crues, parures de porc cru)	1 chiffonnette ou 1 gant	200 mL de BPW ISO (préchauffé)	41,5	10-24	20

(a) Volume d'échantillon transféré dans les tubes de solution de lyse. Consulter l'étape 4.7 de la section Lyse.

(b) Exemples de produits à tester avec le protocole 1 : repas préparés, salades préparées, crème pâtissière.

(c) Exemples de produits à tester avec le protocole 2 : viandes crues, légumes surgelés, tous les fromages, lait fermenté, salade crue (laitue, batavia).

(d) Le lait écrémé UHT peut remplacer le lait écrémé en poudre.

(e) 0,45 mL de coloration aqueuse vert vif à 1 % pour 225 mL de lait écrémé, pour obtenir une concentration de 0,002 % (0,02 g/L) de coloration vert vif.

(f) Pour préparer le lait écrémé en poudre stérile, réaliser une suspension de 100 g de lait écrémé en poudre déshydraté dans 1 L d'eau distillée ou purifiée. Agiter jusqu'à dissolution. Passer à l'autoclave pendant 15 minutes à 121 °C. Conserver entre 2 et 30 °C[(11)].

(g) 5 g de K_2SO_3 pour 1 000 mL de BPW ISO, pour obtenir une concentration finale de 0,5 % K_2SO_3.

(h) 240 mL de lait écrémé en poudre stérile à 100 g/L ajouté à 235 mL 2X de BPW ISO stérilisée avec 0,5 % K_2SO_3.

(i) Préparé à double concentration.

(j) Quand les chaussettes de prélèvement présentent une forte concentration en calcium, une dilution au 1:10 ou au 1:100 du milieu enrichi est nécessaire : transférer 1mL du milieu enrichi dans 9 mL de BPW ISO (dilution au 1:10) ou 100 µL dans 9,9 mL de BPW ISO (dilution au1:100).

Si une deuxième étape d'enrichissement facultative est utilisée, par exemple du milieu Rappaport Vassiliadis, il est nécessaire d'effectuer une dilution 1:2 (1 volume d'enrichissement de l'échantillon dans 1 volume de bouillon d'enrichissement stérile) ou de transférer simplement 10 μL de l'enrichissement secondaire dans les tubes de solution de lyse Neogen. Si du bouillon de tétrathionate (TT) est utilisé, transférer 20 μL de l'enrichissement secondaire dans des tubes de solution de lyse Neogen et ne pas passer au vortex l'enrichissement TT et ne pas pipeter au fond du tube d'enrichissement pour éviter de transférer le précipitat.

Instructions spécifiques pour méthodes validées

AOAC® *Official Methods of Analysis℠* 2016.01

AOAC® *Performance Tested℠* certificat n°091501

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 091501

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

Tableau 3. Protocoles d'enrichissement selon l'étude OMA[SM] 2016.01 de l'AOAC et le certificat PTM[SM] de l'AOAC n° 091501. Le volume d'échantillon transféré dans les tubes de solution de lyse Neogen est de 20 µL.

Matrice de l'échantillon	Taille de l'échantillon	Volume du bouillon d'enrichissement	Température d'enrichissement (± 1 °C)	Durée d'enrichissement (h)
Bœuf cru haché	25 g	225 mL de BPW ISO (préchauffée)	41,5	10-24
	325 g	975 mL de BPW ISO (préchauffée)		
Poulet cru haché	25 g	225 mL de BPW ISO (préchauffée)	41,5	10-24
	325 g	975 mL de BPW ISO (préchauffée)	41,5	14-24
Poulet pané cuit	325 g	2 925 mL de BPW ISO	37	18-24
Aliments secs pour chien	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-24
	375 g	1 500 mL de BPW ISO		
Poivre noir, crevette entière crue, épinard cru en sachet, fromage américain transformé pasteurisé	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-24
Rinçage de carcasse de poulet	30 mL	30 mL de BPW ISO (préchauffée)	41,5	18-24
Éponge passée sur une carcasse de poulet	1 éponge	50 mL de BPW ISO (préchauffée)	41,5	18-24
Lait écrémé en poudre instantané	25 g	225 mL de BPW ISO	37	20-24
Poudre de cacao	25 g	225 mL de BPW ISO	37	24-28
Œuf entier liquide pasteurisé	100 mL	900 mL de BPW ISO	37	18-24
Eau d'irrigation de chou utilisé	375 mL	3 375 mL de BPW ISO	37	18-24
Beurre de cacahuète crémeux	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-24
	375 g	3 375 mL de BPW ISO		
Fleur de cannabis séchée, fleur de chanvre séchée[(b)]	10 g	90 BPW-ISO	41.5	28-32
Chaussettes de prélèvement[(a)]	1 paire – 2 chaussettes	225 mL 2X BPW ISO[(c)]	37	20-26
Chaussettes de prélèvement (à forte concentration en calcium)[(a)]	1 paire – 2 chaussettes	225 mL 2X BPW ISO (après enrichissement, transférer 1 mL dans 9 mL de BPW ISO ou 100 µL dans 9,9 mL de BPW ISO)[(c, d)]	37	20-26

Dispositif d'échantillonnage (parures de bœuf cru, parures de porc cru)		1 chiffonnette[e]	200 mL de BPW ISO (préchauffé)	41,5	10-24
Dispositif d'échantillonnage (parures de volaille crues, carcasses de volaille crues)		1 gant[e]	200 mL de BPW ISO (préchauffé)	41,5	10-24
Environnemental	Béton verni	1 éponge	225 mL de BPW ISO (préchauffée)	41,5	18-24
	Acier inoxydable	1 tampon	10 mL de BPW ISO (préchauffée)	41,5	18-24
	Carreau de céramique verni	1 éponge	50 mL de BPW ISO (préchauffée)	41,5	18-24

Matrice de l'échantillon	Taille de l'échantillon	Volume du bouillon d'enrichissement	Température d'enrichissement (± 1 °C)	Durée d'enrichissement (h)	Milieu d'enrichissement secondaire (mL)	Température de l'enrichissement secondaire (± 1 °C)	Durée d'enrichissement secondaire (h)
Crevette crue, avec la tête	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-24	R-V R10 : 0,1 mL dans 10 mL[a]	41,5	4-24

(a) Transférer 10 µL d'échantillon enrichi dans des tubes de solution de lyse. Consulter l'étape 4.7 de la section Lyse.

(b) Fleur de cannabis séchée (> 0,3 % THC) et fleur de chanvre séchée (≤ 0,3 % THC)

(c) Préparé à double concentration.

(d) Quand les chaussettes de prélèvement présentent une forte concentration en calcium, une dilution au 1:10 ou au 1:100 du milieu enrichi est nécessaire : transférer 1mL du milieu enrichi dans 9 mL de BPW ISO (dilution au 1:10) ou 100 µL dans 9,9 mL de BPW ISO (dilution au1:100).

(e) Préhumidifier avec 25 mL de nBPW

MÉTHODE CERTIFIÉE PAR AFNOR CERTIFICATION

3M 01/16 -11/16
MÉTHODES ALTERNATIVES D'ANALYSE POUR L'AGROALIMENTAIRE
http://nf-validation.afnor.org/en

Pour plus d'information sur l'expiration de la validité, se reporter au certificat NF VALIDATION disponible sur le site Internet cité ci-dessus.

Méthode certifiée NF VALIDATION conformément à la norme ISO 16140-2:2016[12] par rapport à la norme ISO 6579:2017[3].

Portée de la validation : tous les produits alimentaires destinés aux humains, les échantillons environnementaux de production (dont les échantillons de production primaire), les aliments pour animaux domestiques et d'élevage, par dosage de validation sur de nombreux aliments.

Préparation des échantillons : Préparer les échantillons conformément aux normes EN ISO 6579:2017[3] et EN ISO 6887[13].

Version de logiciel : voir le certificat.

Tableau 4. Protocoles d'enrichissement selon la méthode de certification NF VALIDATION 3M 01/16-11/16.

Protocole	Taille de l'échantillon	Volume du bouillon d'enrichissement	Température d'enrichissement (+1 °C)	Durée d'enrichissement (h)	Volume d'échantillon d'analyse (µL)[a]
Protocole 1 : • Nombreux produits alimentaires transformés (à l'exception de la poudre d'œuf, des fruits et légumes transformés et des produits indiqués dans les autres protocoles) • Tous les produits de poisson et de fruits de mer crus • Aliments pour animaux domestiques et d'élevage • Production primaire (non fécale)	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-26	20
Protocole 2 : • Nombreux aliments crus et non transformés (à l'exception des poissons crus et des fruits de mer crus, et des produits indiqués dans les autres protocoles) • Poudre d'œuf • Tous les fruits et légumes • Échantillons environnementaux de la production alimentaire	25 g ou 1 lingette ou 1 tampon	225 mL de BPW ISO préchauffée	41,5	18-26	20
Protocole 3 : • Produits laitiers en poudre	25 g	225 mL de BPW ISO	37	20-26	20
Protocole 4 : • Produits à base de cacao contenant plus de 20 % de cacao	25 g	225 mL de lait écrémé UHT + 0,002 % de vert vif	37	24-30	20
Protocole 5 : • Épices, herbes aromatiques, concentrés, thés, cafés, préparations culinaires	25 g	235 mL de 2 x BPW ISO + K_2SO_3 0,5 % + 240 mL de lait écrémé UHT	37	24-30	10
Protocole 6 : • Viande crue	25 g	225 mL de BPW ISO préchauffée	41,5	10-24	20
Protocole 7 : • Production primaire (fécale)	1 pédisac	100 mL en bouillon de tétrathionate	37	22-24	20
	25 g	225 mL de bouillon de tétrathionate			
Protocole 8 : • Préparations pour nourrissons, céréales pour nourrissons, lait en poudre sans probiotiques[b]	375 g	3375 mL de BPW ISO préchauffée	37	20-26	20
Protocole 9 : • Préparations pour nourrissons, céréales pour nourrissons, lait en poudre avec probiotiques[b]	375 g	3375 mL de BPW ISO préchauffée + vancomycine (10 mg/L)	37	20-26	20

(a) Volume d'échantillon transféré dans les tubes de solution de lyse. Consulter l'étape 4.7 de la section **Lyse**.

(b) Pour les échantillons de poudres et de céréales de plus grande taille, ajouter lentement l'échantillon au liquide en mélangeant fréquemment pour éviter les grumeaux.

REMARQUES :

- Les échantillons supérieurs à 25 g n'ont pas été analysés dans le cadre de l'étude NF VALIDATION sauf dans le protocole 8 et 9.
- Les protocoles de détection courts sont sensibles aux conditions d'incubation. Il est nécessaire de suivre les conditions de température indiquées dans les caractéristiques techniques. L'utilisateur doit vérifier que le préchauffage du bouillon d'enrichissement atteint la température requise avant l'incubation. La durée de préparation des échantillons, le délai entre la fin de l'étape de préchauffage du bouillon d'enrichissement et le début de l'étape d'incubation de l'échantillon alimentaire ne doivent pas dépasser 45 minutes. Il est recommandé d'utiliser un incubateur ventilé durant l'incubation.
- **Pour transférer l'échantillon des enrichissements du bouillon de tétrathionate (TT) vers des tubes de lyse Neogen, ne passer pas au vortex l'enrichissement TT et ne pas pipeter au fond du tube d'enrichissement pour éviter de transférer le précipitat. Le transfert du précipitat peut entraîner des résultats non valides.**
- Les points d'interruption du protocole recommandés se situent après l'enrichissement ou après la lyse de l'échantillon. Le bouillon d'enrichissement ou le lysat de l'échantillon peut être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant une durée maximale de 72 heures. Après avoir retiré le bouillon d'enrichissement de son lieu de conservation, reprendre l'analyse à partir de l'étape 1 de la section **Lyse**. Après avoir retiré le lysat de l'échantillon de son lieu de conservation, reprendre l'analyse à partir de l'étape 8 de la section **Lyse**.

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.

Deux supports de bloc chauffant/refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen sont nécessaires pour cette procédure. Les deux supports correspondent à un même produit (700000145), mais sont utilisés pour des usages différents.

Pour faciliter la compréhension de la procédure, le support utilisé pour l'étape de chauffage sera appelé « support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire », et celui utilisé pour l'étape de refroidissement « support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire ». Ces désignations ont pour seul but de distinguer leurs usages et n'indiquent pas des produits distincts.

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. Utiliser le bloc refroidissant à la température ambiante du laboratoire (20 et 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.

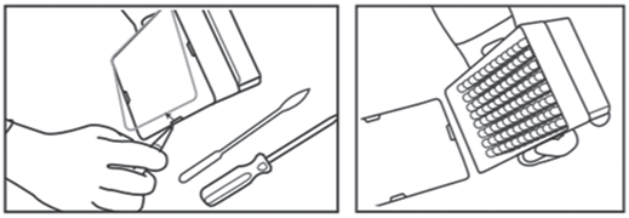
Préparation de l'instrument de détection moléculaire Neogen®

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

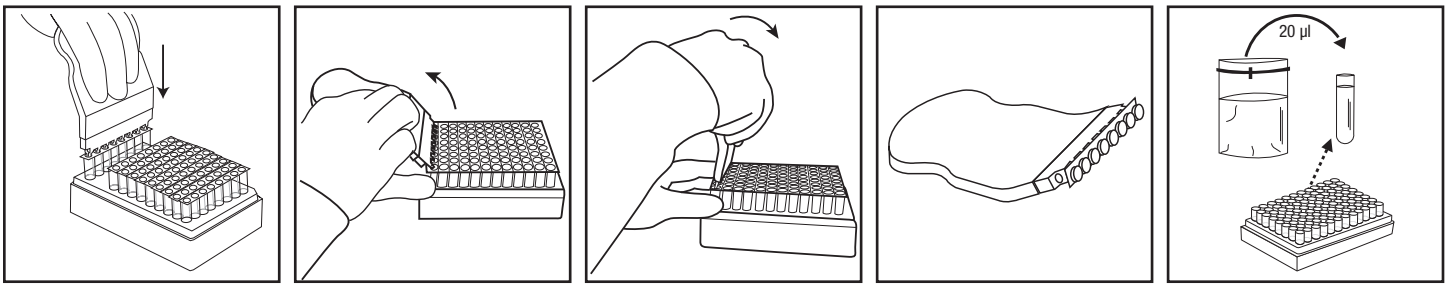
Retirer le portoir pour tubes de solution de lyse Neogen avec un tournevis ou une spatule avant de le placer dans le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen.



1. Laisser les tubes de solution de lyse Neogen se réchauffer en plaçant le portoir à température ambiante (20-25 °C) pendant une nuit (16-18 heures). Il est également possible d'équilibrer les tubes de solution de lyse Neogen à température ambiante, en les plaçant sur la paillasse du laboratoire pendant au moins 2 heures, en les plaçant dans un incubateur à 37 ± 1 °C pendant 1 heure ou encore en les plaçant dans une unité de traitement thermique à sec à double bloc pendant 30 secondes à 100 ± 1 °C.
2. Retourner les tubes fermés pour mélanger. Passer à l'étape suivante dans les 4 heures suivant l'inversion.
3. Retirer l'échantillon enrichi de l'incubateur.
4. Un tube de solution de lyse Neogen est nécessaire pour chaque échantillon et pour l'échantillon de témoin négatif (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 de solution de lyse Neogen souhaité. Sélectionner le nombre de tubes de solution de lyse Neogen 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 tubes 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 Agiter la poche d'enrichissement avant de recueillir l'échantillon à partir du côté filtré lors du travail avec des échantillons visqueux.
   - 4.7 Transférer 20 µL d'échantillon dans un tube de solution de lyse Neogen, sauf indication contraire dans le tableau du protocole (exemple : protocole 5 et enrichissement secondaire dans de la RVS ou, lors de l'utilisation d'échantillons environnementaux, avec du tampon neutralisant).



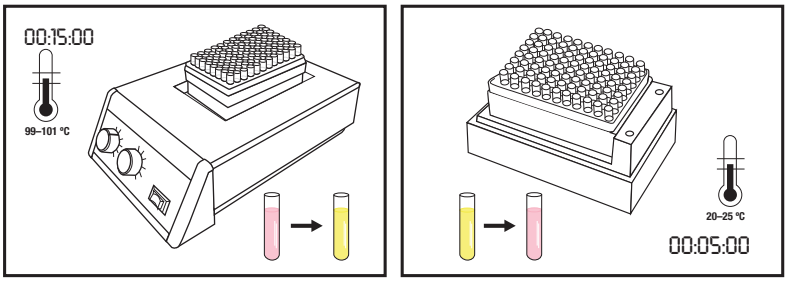
5. Répéter les étapes 4.4 et 4.7 jusqu'à ce que chaque échantillon individuel soit ajouté à un tube de solution de lyse Neogen correspondant sur la barrette.
6. Une fois tous les échantillons transférés, transférer 20 µL de NC (milieu d'enrichissement stérile, p. ex. BPW) dans un tube de solution de 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. Étape de chauffage : 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. Étape de refroidissement : Retirer le portoir non couvert de tubes de solution de lyse Neogen du bloc chauffant et laisser refroidir dans le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen pendant une durée comprise entre 5 et 10 minutes. Utilisé à température ambiante, le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen doit être posé directement sur le plan de travail du laboratoire. En refroidissant, la solution de lyse Neogen reprendra 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. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.

   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 Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 ou de barrettes de 8 tubes nécessaire.

   1.2 Placer les tubes de réactif Neogen dans un portoir vide.

   1.3 Éviter d'agiter les pastilles réactives se trouvant au fond des tubes.

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

3. Pour éviter toute contamination croisée, ouvrir une barrette de tubes de réactif 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 Kit de détection moléculaire Salmonella Neogen version 2 et dans un tube de contrôle Neogen comme décrit ci-dessous :

Transférer chaque lysat d'échantillon dans des tubes de réactif individuels **en premier**, puis dans le NC. Hydrater le tube de contrôle de réactif Neogen en **dernier**.

5. Ouvrir les tubes de réactif du Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 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 supérieure du liquide (éviter le précipité) dans le tube de solution de lyse Neogen du Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2**. **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 Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 correspondant dans la barrette.

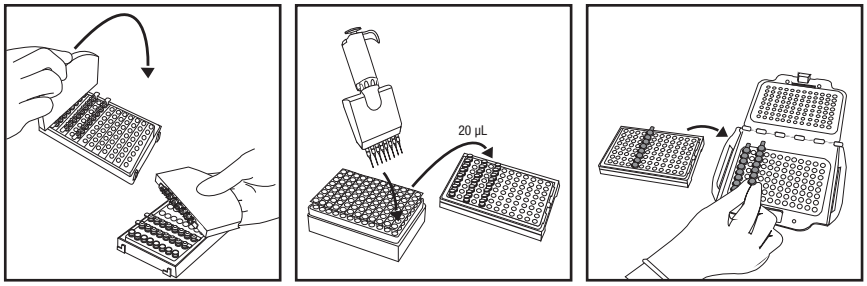
   5.3 Placer la capsule supplémentaire prévue à cet effet sur les tubes de réactif du Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2, puis prendre le bord arrondi de l'outil d'ouverture/fermeture pour système de détection moléculaire Neogen - Réactif et appuyer dans un mouvement de va-et-vient 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 et 5.3 afin de transférer 20 µL de lysat de NC dans un tube de réactif du Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2.

   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. Vérifier et confirmer la configuration de l'analyse dans le logiciel du système 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'analyse. 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 Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2, les tubes de contrôle de réactif Neogen, le réactif 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 à 1-5 % (v:v dans de l'eau) pendant 1 heure, à l'écart de la zone de préparation des analyses.

Résultats et interprétation

Un algorithme interprète le signal lumineux et la courbe de résultats 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'analyse.

Les résultats présumés positifs doivent être confirmés selon les procédures standard des laboratoires ou en suivant la confirmation de la méthode de référence appropriée[1,2,3], en commençant par effectuer un transfert du premier bouillon d'enrichissement vers le ou les bouillons d'enrichissement secondaires, puis en effectuant la mise en culture et la confirmation des isolats à l'aide des méthodes biochimiques et sérologiques appropriées.

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

Dans le cas peu probable d'un résultat lumineux inhabituel, l'algorithme considérera l'échantillon comme « À vérifier ». Neogen recommande à l'utilisateur de recommencer l'analyse pour tout échantillon considéré comme « À vérifier ». Si le résultat continue à être « À vérifier », passer au test de confirmation en utilisant la méthode de votre choix ou en utilisant une méthode conforme aux règlementations locales.

Tableau 5. Symboles et informations relatifs aux différents résultats du logiciel.

Type de puits	Symbole du résultat du puits	Résultat	Interprétation
Échantillon		Positif	L'échantillon est présumé positif pour le pathogène cible.
Échantillon		Négatif	L'échantillon est négatif pour le pathogène cible.
Échantillon		Inhibé	La matrice de l'échantillon est inhibitrice pour le test. Un second test peut être nécessaire.
Échantillon		Inspection	La présence ou l'absence du pathogène cible est indéterminée. Un second test peut être nécessaire.
Échantillon		Erreur	Aucune bioluminescence n'a été détectée. Un second test peut être nécessaire.

*Consulter le rapport d'analyse pour plus de détails sur les résultats. Au besoin, contacter le représentant Neogen local pour une assistance au dépannage.

Confirmation des résultats selon la méthode de certification NF VALIDATION

Dans le cadre de la NF VALIDATION, tous les échantillons identifiés comme positifs par le Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2 doivent être confirmés par l'un des tests suivants :

Option 1 : utilisation de la norme ISO 6579[3] en commençant par l'enrichissement en eau peptonée tamponnée[3].

Option 2 : mise en place d'une méthode de confirmation consistant à effectuer les étapes suivantes : transférer 0,1 mL de l'enrichissement en BPW ISO[3] ou l'enrichissement en bouillon au tétrathionate (échantillons de production primaires) dans 10 mL de bouillon RVS. Incuber pendant 24 ± 3 heures à 41,5 °C. Étaler en série sur de la gélose Xylose-Lysine-Désoxycholate (XLD)[3] ou sur de la gélose chromogène spécifique à *Salmonella*. Effectuer une agglutination au latex à l'aide de l'Oxoid *Salmonella* Latex Test directement sur des colonies isolées.

Option 3 : Utilisation de sondes d'acide nucléique tel que décrit dans la norme EN ISO 7218:2024[5], à partir de colonies isolées sur gélose XLD ou gélose chromogénique (voir les options 1 ou 2). Ce test ne doit pas être effectué à l'aide du Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2.

Option 4 : utilisation de n'importe quelle autre méthode de certification NF VALIDATION, dont le principe doit être différent du Kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2. Il convient d'utiliser l'intégralité du protocole décrit pour cette seconde méthode de validation. Toutes les étapes précédant le début de la confirmation doivent être communes aux deux méthodes.

En cas de résultats contradictoires (positif présumé avec le kit de détection moléculaire *Salmonella* Neogen version 2, non confirmé par l'un des moyens décrits ci-dessus, et en particulier pour le test d'agglutination au latex), le laboratoire doit suivre les procédures nécessaires pour garantir la validité des résultats obtenus.

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.

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 lyse avec un bouchon propre (voir la section **Lyse**, 4.5).
2. Stocker à une température comprise entre 4 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 et laisser refroidir dans le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen pendant une durée comprise entre 5 et 10 minutes.
7. Poursuivre le protocole à la section **Amplification** détaillée ci-dessus.

Références :

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.10. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and siluriformes (fish) products and carcass and environmental sponges. Effective Date: 2 January 2019.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
7. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
8. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
9. 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.
10. ISO 18593:2018. Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling.
11. US Food and Drug Administration – *Bacteriological Analytical Manual*, Medium M111: Nonfat Dry Milk (Reconstituted). January 2011.
12. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain - part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
13. ISO 6887 (all parts). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
14. Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimmings and Bench Trim | Food Safety and Inspection Service https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-notice/05-23
15. USDA/FSIS Letter of No Objection (NOL) for the MicroTally® Mitt food surface sampler. https://microtally.com/wp-content/uploads/2025/01/Poultry-Mitt-NOL.pdf

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 2026. All rights reserved.
Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
All other trademarks are the property of their respective companies.

© 2026, Neogen. Tous droits réservés.
Neogen est une marque de commerce de Neogen.
Toutes les autres marques de
commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.
FS00869B

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

NEOGEN®

Gebrauchsanweisungen

Neogen® Molekulare Detektion 2 - *Salmonellen Nachweis*

Produktbeschreibung und Verwendungszweck

Der Neogen® Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* wird in Verbindung mit dem Neogen® Molekularen Detektionssystem für den schnellen und spezifischen Nachweis von *Salmonellen* in angereicherten Proben aus Lebens- und Futtermitteln sowie Umgebungen der Lebensmittelverarbeitung verwendet.

Die Neogen® Molekularen Detektionsnachweise verwenden die mittels einer „Loop" initiierte isotherme Amplifikation, um in Kombination mit 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 müssen mithilfe eines Testverfahrens Ihrer Wahl oder gemäß den jeweils geltenden Richtlinien bestätigt werden[1, 2, 3].

Der Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* ist für den Gebrauch in Laboren 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 Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* 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 Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella*" unter Verwendung von gepuffertem Peptonwasser (BPW) nach ISO-Norm als Anreicherungsmedium 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 Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* enthält 96 Testverfahren, die in Tabelle 1 beschrieben werden.

Tabelle 1. Komponenten des Neogen Molekularen Detektionsnachweises

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® Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis*	Grüne Gefäße	96 (12 Streifen in 8 Gefäßen)	Lyophilisierte spezifische Amplifikations- und Detektionsmischung	Gebrauchsfertig
Zusätzliche Kappen	Grüne Kappen	96 (12 Streifen in 8 Kappen)		Gebrauchsfertig
Neogen® Reagenzkontrolle (RC)	Durchsichtige Gefäße	16 (2 Beutel mit 8 einzelnen Gefäßen)	Lyophilisierte Kontroll-DNS, Amplifikations- und Detektionsmatrix	Gebrauchsfertig

Die Negativkontrolle (NC), nicht im Kit enthalten, ist ein steriles Anreicherungsmedium, z. B. BPW ISO. Als NC kein Wasser verwenden.

Sicherheit

Der Anwender muss sämtliche in der Gebrauchsanleitung des Neogen Molekularen Detektionssystems und des

Neogen Molekularen Detektion 2 – *Salmonellen Nachweises* 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 Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* nicht zur Diagnose von Erkrankungen bei Menschen oder Tieren einsetzen.

Der Benutzer muss sein Personal in aktuellen ordnungsgemäßen Testtechniken schulen: zum Beispiel gemäß „Gute Laborpraxis“[(4)], ISO 7218:2024[(5)] oder „CDC-Leitlinien zur Biosicherheit in mikrobiologischen und biomedizinischen Laboren (BMBL)“[(6)].

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 Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* wie auf der Packung und in der Gebrauchsanweisung beschrieben.
- Verwenden Sie den Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* stets vor Ablauf des Verfalldatums.
- Verwenden Sie den Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* mit Lebensmittel-, Futter- und Lebensmittelverfahrensproben, die entweder intern oder von einem Dritten evaluiert worden sind.
- Verwenden Sie den Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* 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® Probenhandhabungsprodukte einschließlich Neutralisationspuffer mit Arylsulfonatkomplex: 700002040 | RS96010NB, 700002011 | RS9604NB 700002003 | SSL10NB, 700002004 | SSL10NB2G, 700002213 | HS10NB, and 700002002 | HS10NB2G.

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.
- Entsorgen Sie angereicherte Proben gemäß aktueller örtlicher, regionaler und nationaler Vorschriften.
- 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 Verringerung der Risiken, die mit Umweltkontamination verbunden sind:

Beachten Sie die örtlichen, regionalen und nationalen Vorschriften zur Entsorgung.

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 niemals Reagenzröhrchen 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 Produkten von Neogen Food Safety erhaltenen Ergebnisse keine Garantie für die Qualität der untersuchten Matricen oder Prozesse dar.

Um Kunden dabei zu unterstützen, die Eignung der Methode während der Umsetzung zu bewerten, hat Neogen das „Neogen Molecular Detection Matrix Control Kit“ entwickelt (in ISO 24914:2026 auch als „Amplifikationskontrolle“ [7] bezeichnet). Verwenden Sie die Matrixkontrolle, um während der Validierung und Verifizierung die Beeinflussung der Ergebnisse des Neogen Molecular Detection Assay 2 *Salmonella* durch die Matrix zu bewerten. Befolgen Sie die Norm ISO 16140-3:2021[8] und/oder das Qualitätssicherungsprogramm Ihrer Organisation, um die repräsentative Anzahl der Proben zu ermitteln, die zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit der Methode und zur Festlegung ihres Anwendungsbereichs in Ihrem Labor erforderlich ist. Die routinemäßige Verwendung der Neogen Molecular Detection Matrix Control ist nicht erforderlich, sobald die Methode validiert und der Anwendungsbereich des Labors festgelegt wurde. Befolgen Sie das Qualitätssicherungsprogramm Ihres Unternehmens, um im Einzelfall zu entscheiden, ob die Neogen Molecular Detection Matrix Control erforderlich ist und wie oft sie bei Routinetests eingesetzt werden soll.

Eine Matrix kann als eine Produktart mit spezifischen Eigenschaften, z. B. in Bezug auf ihre Zusammensetzung und Verarbeitung, definiert werden. Unterschiede zwischen Matrices können einfache Auswirkungen von Unterschieden in Verarbeitung oder Präsentation sein, wie roh oder pasteurisiert, frisch oder getrocknet usw.

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 den Neogen-Verkaufsvertreter 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.

Die vollständigen Allgemeinen Geschäftsbedingungen von Neogen finden Sie unter: https://www.neogen.com/en/terms-and-conditions/

Lagerung und Entsorgung

Lagern Sie die Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* bei 2–8 °C. 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. Wieder verschlossene Beutel können maximal 60 Tage bei 2–8 °C aufbewahrt werden.

Verwenden Sie den Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* 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 Detektion 2 – *Salmonellen Nachweises* pathogene Stoffe enthalten. Wenn die Tests abgeschlossen sind, befolgen Sie die lokalen, regionalen und nationalen Bestimmungen für die Entsorgung kontaminierter Abfälle. 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.

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

Der Anwender sollte die Funktionsqualifizierung (Operational Qualification) für das Neogen Molekulare Detektionssystem absolvieren wie im Dokument „Protokolle und Anweisungen für Installationsqualifizierung (IQ) / Funktionsqualifizierung (OQ) für das Neogen Molekulare Detektionssystem“ beschrieben[9].

Spezifische Anweisungen finden Sie im Abschnitt „Spezielle Anweisungen für validierte Verfahren“:

Für Anreicherungsprotokolle gemäß AOAC® *Official Method of Analysis℠* **2016.01** und AOAC® *Performance Tested℠* Zertifikat Nr. **091501** in Tabelle 3.

Für Anreicherungsprotokolle gemäß NF VALIDATION-Zertifikat **3M 01/16-11/16** in Tabelle 4.

Probenanreicherung

Die Tabellen 2, 3 und 4 enthalten Leitlinien für allgemeine Anreicherungsprotokolle für Lebensmittel-, Futtermittel- und Umweltproben.

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

Lebensmittel

1. Lassen Sie das Anreicherungsmedium BPW ISO, je nach getesteter Matrix, auf die Raumtemperatur des Labors oder 41,5 ± 1 °C aufwärmen. Siehe die Tabellen 2, 3 bzw. 4.
2. Vereinen Sie das Anreicherungsmedium und die Probe gemäß einem aseptischen Verfahren.
3. Homogenisieren Sie gründlich durch Verschneiden, Vermischung oder mischen von Hand für 2 ± 0,2 Minuten oder bis alle Klumpen vollständig aufgelöst und die Anreicherungssuspension homogen ist[13].
    a. Bei der Handhabung von Fleisch- und partikelreichen Proben wird die Verwendung von Filterbeuteln empfohlen.
    b. Für Matrices, die in Wasser aufquellen und hochviskös sind (z. B. Zerealien, Stärken), wird empfohlen, weitere Verdünnungen vorzunehmen (> 1:10), bis die Viskosität ausreichend verringert ist, oder geben Sie sterile 1 %ige (w/v) Alpha-Amylase zum BPW (ISO)[13].
    c. Große Milchpulver- und Zerealien-Proben sollten unter regelmäßigem Rühren langsam zur Flüssigkeit gegeben werden, um eine Verklumpung zu vermeiden.
4. Inkubieren Sie wie in der entsprechenden Protokolltabelle beschrieben (siehe Tabellen 2, 3 oder 4).

Umgebungsproben

Ein Instrument zur Probennahme kann ein Schwamm sein, der mit einer neutralisierenden Lösung hydriert ist, um die Wirkung von Desinfektionsmitteln zu deaktivieren. Neogen empfiehlt die Verwendung eines Biozid-freien Zelluloseschwamms. Bei der Neutralisierungslösung kann es sich um eine Dey-Engley (D/E)-Neutralisierungs- oder Letheen-Bouillon handeln. Der Bereich muss nach der Probenahme desinfiziert werden.

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.

Die empfohlene Größe des Probenbereichs, mit dem die Anwesenheit oder Abwesenheit des Pathogens auf der Oberfläche überprüft werden soll, liegt bei mindestens 100 cm^2 (10 cm x 10 cm oder 4″ x 4″). Decken Sie bei der Probennahme mit einem Schwamm den gesamten Bereich in zwei Richtungen (links nach rechts oder oben nach unten) ab oder sammeln Sie Umgebungsproben gemäß Ihrem aktuellen Probennahmeprotokoll oder gemäß den FDA BAM[1], USDA FSIS MLG[2] oder ISO 18593:2018[10] Richtlinien.

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

1. Anreicherungsmedium BPW ISO je nach getesteten Matricen auf 41,5 ± 1 °C erwärmen. Siehe die Tabellen 2, 3 bzw. 4.
2. Anreicherungsmedium und die Probe gemäß Tabelle 2, 3 oder 4 aseptisch mischen. Für alle Fleischproben und stark partikelförmigen Proben wird die Verwendung von Filterbeuteln empfohlen.
3. Gründlich 2 ± 0,2 Minuten lang mit einem Mixer, Stomacher oder Handmixer homogenisieren. Bei der im entsprechenden Protokollschema angegebenen Temperatur inkubieren. Siehe Tabelle 2, 3 oder 4.

Probenahmegerät

1. Bei der Verwendung von Probentüchern sind die FSIS-Leitlinien zu befolgen, die in der *Methode zur Probenahme mit Probentüchern als Ersatz für die N60-Exzisionsprobenahme bei der Rindfleischverarbeitung und beim Abziehen von Fleisch*[14], dargelegt sind, indem die Matrix 90 Sekunden lang mit dem Probentuch abgetupft wird, jeweils 45 Sekunden pro Seite.
2. Für die Tupferbeprobung mit dem Handschuh ist gemäß den Vorgaben des USDA Agricultural Research Service No Objection Letter der Handschuh vor der Probenahme mit 25 ml nBPW vorzubefeuchten; anschließend ist die Matrix auf einer Seite 15 Sekunden lang abzuscheuern. Drehen Sie den Handschuh um und schrubben Sie weitere 15 Sekunden lang. Falten Sie den Handschuh zweimal in der Mitte und legen Sie ihn in den Probenbeutel.
3. Das BPW-ISO-Nährmedium auf 41,5 °C ± 1 °C abkühlen lassen.
4. Das Nährmedium und die Probe unter aseptischen Bedingungen vermischen, wobei darauf zu achten ist, dass die Probenahmevorrichtung vollständig eingetaucht ist.
5. Alle Proben mindestens 30 Sekunden lang von Hand oder durch Schütteln vermischen. Stellen Sie sicher, dass die Probenahmevorrichtung bis zum Boden des Beutels geschoben und vollständig in das Nährmedium eingetaucht ist, und inkubieren Sie sie gemäß den Angaben in der entsprechenden Protokolltabelle (siehe Tabelle 2 oder 3).

Tabelle 2. Allgemeine Anreicherungsprotokolle.

Probenmatrix	Probengröße	Anreicherungsbouillon-volumen	Anreicherungs-temperatur (±1 °C)	Anreiche-rungszeit (Stunden)	Probenanalyse-volumen (µl)[a]
Protokoll 1 Verarbeitete Lebensmittelprodukte (außer Eipulver und Produkte, die in anderen Protokolle angegeben sind)[b]	25 g	225 ml BPW ISO	37	18–26	20
Protokoll 2 Roh und unverarbeitete Lebensmittel, Eipulver, Tiernahrung und Umgebungsproben[c]	25 g	225 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	18–26	20
Protokoll 3 Pulverisierte Milchprodukte (einschließlich Säuglingsnahrung, Säuglingsnahrung auf Sojabasis)	25 g	225 ml BPW ISO	37	20–26	20
Protokoll 4 Produkte auf Kakaobasis (Pulver, Schokolade, Süßwaren usw.)	25 g	225 ml sterile 100 g/l fettfreie Trockenmilch mit 0,002 % brillantgrünem Farbemittel[d,e,f]	37	24–30	20

Protokoll 5 Sonstige wie: Gewürze, aromatische Kräuter, Konzentrate, Instanttees und -kaffees, Bouillonwürfel	25 g	235 ml 2X BPW ISO mit 0,5 % K_2SO_3 + 240 ml sterile 100 g/l fettfreie Trockenmilch[d,g,h]	37	24–30	10
Protokoll 6 Walnüsse oder Nussmischungen, die Walnüsse enthalten (dieses Protokoll ist auch für andere Nüsse wie Pekannüsse, Mandeln, Pistazien, Cashewnüsse, Esskastanien, Macadamianüsse, Paranüsse, Sojanüsse und Erdnüsse anwendbar)	25 g	225 ml sterile 100 g/l fettfreie Trockenmilch[d]	37	18–24	20
Protokoll 7 Stiefelüberzieher (boot socks)	1 Paar – 2 Stiefel	225 ml 2X BPW ISO[i]	37	20-26	10
Protokoll 8 Stiefelüberzieher (boot socks) mit hoher Calciumkonzentration	1 Paar – 2 Stiefel	225 ml 2X BPW ISO (nach der Anreicherung 1 ml in 9 ml BPW ISO oder 100 µl bis 9,9 ml BPW ISO)[i,j]	37	20-26	10
Protokoll 9 Probenahmegerät (rohe Rindfleischabschnitte, rohe Geflügelteile, rohe Geflügelschlachtkörper, rohe Schweinefleischabschnitte)	1 Tuch oder 1 Handschuh	200 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	10-24	20

(a) Volumen der Probe, das in Lyselösungsgefäße übertragen wird. Siehe Schritt 4.7 im Abschnitt Lyse.

(b) Beispiele für Produkte, die mit Protokoll 1 getestet werden: Fertiggerichte, Feinkostsalate, Eiercreme.

(c) Beispiele für Produkte, die mit Protokoll 2 getestet werden: rohes Fleisch, gefrorenes Gemüse, alle Käsesorten, fermentierte Milch, roher Salat (Kopfsalat, Bataviasalat).

(d) Fettfreie UHT-Milch kann durch fettfreie Trockenmilch ersetzt werden.

(e) 0,45 ml 1 % wässrige brillantgrün Farbstofflösung pro 225 ml fettfreie Milch, was eine Endkonzentration von 0,002 % (0,02 g/l) brillantgrüner Farbe.

(f) Um sterile, fettfreie Milch vorzubereiten, 100 g dehydrierte, fettfreie Trockenmilch in 1 l destilliertem oder gereinigtem Wasser lösen. Umrühren, bis alles aufgelöst ist. Bei 121 °C für 15 Minute autoklavieren. Bei 2–30 °C[11] lagern.

(g) 5 g K_2SO_3 pro 1000 ml BPW ISO, was zu einer Konzentration von 0,5 % K_2SO_3 führt.

(h) 240 ml 100 g/l sterile, fettfreie Trockenmilch muss zu 235 ml sterilisierter 2X BPW ISO mit 0,5 % K_2SO_3 hinzugefügt werden.

(i) Mit doppelter Konzentration vorbereitet.

(j) Wenn die Stiefel-Abstriche einen hohen Kalziumgehalt aufweisen, ist eine Verdünnung des angereicherten Mediums im Verhältnis 1:10 oder 1:100 erforderlich: 1 ml des angereicherten Mediums in 9 ml BPW ISO (1:10-Verdünnung) oder 100 µl in 9,9 ml BPW ISO (1:100-Verdünnung) überführen.

Wird ein optionaler, sekundärer Anreicherungsschritt eingesetzt, z. B. Rappaport Vassiliadis-Medium, muss eine 1:2-Verdünnung (1 Teil Probnanreicherung in 1 Teil sterile Anreicherungsbouillon) durchgeführt oder 10 µl sekundäre Anreicherung in die Neogen Lyselösungsgefäße übertragen werden. Wird Tetrathionat- (TT) Bouillon verwendet, übertragen Sie 20 µl der sekundären Anreicherung in die Neogen Lyselösungsgefäße und verwirbeln oder pipettieren Sie nicht aus dem unteren Bereich des Anreicherungsgefäßes, um die Übertragung von Ablagerungen zu vermeiden.

Spezifische Anweisungen für validierte Verfahren

AOAC® *Official Methods of Analysis℠* 2016.01

AOAC® *Performance Tested℠* Zertifikat Nr. 091501

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 091501

OMA[SM]- und PTM[SM]-Programme des AOAC Research Institute erwies sich der Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* als wirksame Methode zur Detektion von *Salmonellen*. Die in der Studie getesteten Matrices sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3. Anreicherungsprotokolle gemäß AOAC OMA[SM] 2016.01 und AOAC PTM[SM] Zertifikat Nr. 091501. Volumen der Probe, das in Neogen Lyselösungsgefäße übertragen wird, beträgt 20 µl.

Probenmatrix	Probengröße	Anreicherungs-bouillonvolumen	Anreicherungstempe-ratur (±1 °C)	Anreicherungszeit (Stunden)
Rohes Hackfleisch	25 g	225 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	10–24
	325 g	975 ml BPW ISO (vorgewärmt)		
Rohes Geflügelhackfleisch	25 g	225 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	10–24
	325 g	975 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	14–24
Paniertes Hähnchen	325 g	2.925 ml BPW ISO	37	18–24
Hundetrockenfutter	25 g	225 ml BPW ISO	37	18–24
	375 g	1.500 ml BPW ISO		
Schwarzer Pfeffer, rohe ganze Garnelen, roher Beutelspinat, pasteurisierter verarbeiteter amerikanischer Käse	25 g	225 ml BPW ISO	37	18–24
Hühnerkörperspülung	30 ml	30 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	18–24
Hühnerkörperschwamm	1 Schwamm	50 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	18–24
Fettfreie Fertigtrockenmilch	25 g	225 ml BPW ISO	37	20–24
Kakaopulver	25 g	225 ml BPW ISO	37	24–28
Pasteurisiertes flüssiges Vollei	100 ml	900 ml BPW ISO	37	18–24
Verbrauchtes Bewässerungswasser für Sprossen	375 ml	3.375 ml BPW ISO	37	18–24
Cremige Erdnussbutter	25 g	225 ml BPW ISO	37	18–24
	375 g	3.375 ml BPW ISO		
Getrocknete Cannabisblüten, getrocknete Hanfblüten[(b)]	10 g	90 BPW-ISO	41,5	28–32
Stiefelüberzieher (boot socks)[(a)]	1 Paar – 2 Stiefel	225 ml 2X BPW ISO [(c)]	37	20-26
Stiefelüberzieher (boot socks) (mit hohem Kalziumgehalt)[(a)]	1 Paar – 2 Stiefel	225 ml 2X BPW ISO; nach der Anreicherung 1 ml in 9 ml BPW ISO oder 100 µl in 9,9 ml BPW ISO überführen) [(c, d)]	37	20-26
Probenahmegerät (rohe Rindfleischabschnitte, rohe Schweinefleischabschnitte)	1 Tuch[(e)]	200 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	10-24
Probenahmegerät (rohe Geflügelteile, rohe Geflügelschlachtkörper)	1 Handschuh[(e)]	200 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	10-24

Umwelt	Versiegelter Beton	1 Schwamm	225 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	18–24
	Edelstahl	1 Tupfer	10 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	18–24
	Versiegelte Keramikfliese	1 Schwamm	50 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	18–24

Probenmatrix	Probengröße	Anreicherungs-bouillonvolumen	Anreicherungstem-peratur (±1 °C)	Anreiche-rungszeit (Stunden)	Sekundäres Anreicherungs-medium (ml)	Sekundäre Anreicherungs-temperatur (±1 °C)	Sekundäre Anreiche-rungszeit (Stunden)
Rohe Garnele	25 g	225 ml BPW ISO	37	18–24	R-V R10: 0,1 ml in 10 ml[a]	41,5	4–24

(a) 10 µl angereicherte Probe in die Lyselösungsgefäße übertragen. Siehe Schritt 4.7 im Abschnitt Lyse.

(b) Getrocknete Cannabisblüten (>0,3 % THC) und getrocknete Hanfblüten (≤0,3 % THC)

(c) Mit doppelter Konzentration vorbereitet.

(d) Wenn die Stiefel-Abstriche einen hohen Kalziumgehalt aufweisen, ist eine Verdünnung des angereicherten Mediums im Verhältnis 1:10 oder 1:100 erforderlich: 1 ml des angereicherten Mediums in 9 ml BPW ISO (1:10-Verdünnung) oder 100 µl in 9,9 ml BPW ISO (1:100-Verdünnung) überführen.

(e) Mit 25 ml nBPW vorbefeuchten

NF VALIDATION gemäß AFNOR Certification

3M 01/16 – 11/16
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
http://nf-validation.afnor.org/en

Für weitere Informationen zum Ablauf der Validierung siehe NF VALIDATION-Zertifikat unter der oben genannten Website.

NF VALIDATION zertifizierte Methode in Übereinstimmung mit ISO 16140-2:2016[12] im Vergleich zu ISO 6579:2017[3].

Einsatzgebiet der Validierung: Alle humanen Nahrungsprodukte, Umgebungsproben aus der Fertigung (einschließlich Primärproduktionsproben), Haustiernahrung und Tiernahrung, indem Validationsnachweise an einer Vielzahl von Nahrungsmitteln durchgeführt werden.

Probenvorbereitung: Proben müssen gemäß EN ISO 6579:2017[3] und EN ISO 6887[13] vorbereitet werden.

Softwareversion: Siehe Zertifikat.

Tabelle 4. Anreicherungsprotokolle gemäß NF VALIDATION-zertifizierter Methode 3M 01/16 – 11/16.

Protokoll	Probengröße	Anreicherungs-bouillonvolumen	Anreiche-rungstempe-ratur (+1 °C)	Anreiche-rungszeit (Stunden)	Probenana-lysevolumen (µl)[a]
Protokoll 1: • Vielzahl von verarbeiteten Nahrungsprodukten (ausgenommen Eipulver, verarbeitetes Obst und Gemüse und in den anderen Protokollen angegebene Produkte) • Alle Fischprodukte und Produkte aus rohen Meeresfrüchten • Haustiernahrung und Tiernahrung • Primärproduktion (nicht-fäkal)	25 g	225 ml BPW ISO	37	18–26	20
Protokoll 2: • Vielzahl von rohen und unverarbeiteten Nahrungsmitteln (ausgenommen roher Fisch und rohe Meeresfrüchte, und in den anderen Protokollen angegebene Produkte) • Eipulver • Alle Obst- und Gemüsesorten • Umweltproben auf der Nahrungsmittelfertigung	25 g oder 1 Tuch oder 1 Tupfer	225 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	18–26	20
Protokoll 3: • Pulverisierte Milchprodukte	25 g	225 ml BPW ISO	37	20–26	20
Protokoll 4: • Kakaobasierte Produkte mit mehr als 20 % Kakao	25 g	225 ml fettfreie UHT-Milch + 0,002 % Brillantgrün	37	24–30	20
Protokoll 5: • Gewürze, aromatische Kräuter, Konzentrate, Tees, Kaffees, Küchenhilfen	25 g	235 ml 2 x BPW ISO + K_2SO_3 0,5 % + 240 ml fettfreie UHT-Milch	37	24–30	10
Protokoll 6: • Rohes Fleisch	25 g	225 ml BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	10–24	20
Protokoll 7: • Primärproduktion (fäkal)	1 Probensocke	100 ml in Tetrathionatbouillon	37	22–24	20
	25 g	225 ml Tetrathionatbouillon			
Protokoll 8: • Säuglingsfertignahrung, Zerealien für Kleinkinder, Milchpulver ohne Probiotika[b]	375 g	3375 ml BPW ISO (vorgewärmt)	37	20–26	20
Protokoll 9: • Säuglingsfertignahrung, Zerealien für Kleinkinder, Milchpulver mit Probiotika[b]	375 g	3375 ml BPW ISO (vorgewärmt) + Vancomycin (10 mg/l)	37	20–26	20

(a) Volumen der Probe, das in Lyselösungsgefäße übertragen wird. Siehe Schritt 4.7 im Abschnitt **Lyse**.

(b) Große Pulver- und Zerealien-Proben sollten unter regelmäßigem Rühren und langsam zur Flüssigkeit gegeben werden, um eine Verklumpung zu vermeiden.

HINWEISE:

- Proben über 25 g wurden nicht getestet, außer in Protokoll 8 und 9 der NF VALIDATION-Studie.
- Die kurzen Protokolle der Detektion reagieren empfindlich auf Bedingungen der Inkubation. Die Temperaturbe- dingungen, die in den technischen Angaben angegeben sind, müssen befolgt werden. Der Benutzer muss verifizieren, dass die Vorwärmung der Anreicherungsbouillon die erforderliche Temperatur vor der Inkubation erreicht. Die Vorbereitungszeit der Proben, Verzögerung zwischen dem Ende des Schritts zur Vorwärmung der Anreicherungsbouillon und dem Beginn des Schritts zur Inkubation der Lebensmittelprobe, darf 45 Minuten nicht überschreiten. Die Verwendung eines belüfteten Inkubators zur Inkubation wird empfohlen.
- **Zur Übertragung der Probe Tetrathionat- (TT) Bouillonanreicherungen in das Neogen Lysegefäß die TT-Anreicherung nicht verwirbeln oder aus dem unteren Bereich des Anreicherungsgefäße pipettieren, um die Übertragung von Ablagerungen zu vermeiden. Die Übertragung von Ablagerungen kann zu ungültigen Ergebnissen führen.**
- Die empfohlenen Protokoll-Unterbrechungspunkte sind nach Anreicherung oder nach Probenlyse. Die Anreicherungsbouillon bzw. das Probenlysat kann bis zu 72 Stunden bei 2–8 °C gelagert werden. Fahren Sie mit dem Testen ab Schritt 1 im Abschnitt **Lyse** fort, nachdem Sie die Anreicherungsbouillon aus der Lagerung genommen haben. Fahren Sie mit dem Testen ab Schritt 8 im Abschnitt **Lyse** fort, nachdem Sie das Probenlysat aus der Lagerung genommen haben.

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.

Für diesen Vorgang werden zwei Neogen-Einsätze für den Molekulardetektions-Heiz-/Kühlblock benötigt. Beide Einsätze sind das gleiche Produkt (700000145), werden jedoch für unterschiedliche Funktionen verwendet.

Der Übersichtlichkeit halber wird der für den Erhitzungsschritt verwendete Einsatz als Molekulare Detektion - Heizblockeinsatz bezeichnet, während der für den Kühlschritt verwendete Einsatz als Molekulare Detektions - Kühlblockeinsatz bezeichnet wird. Diese Bezeichnungen dienen lediglich der Unterscheidung ihrer Funktionen und weisen nicht auf separate Produkte hin.

Vorbereitung des Neogen® Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatzes

Stellen Sie den Neogen® Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz direkt auf die Laborbank. Verwenden Sie den Block bei Laborraumtemperatur (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.

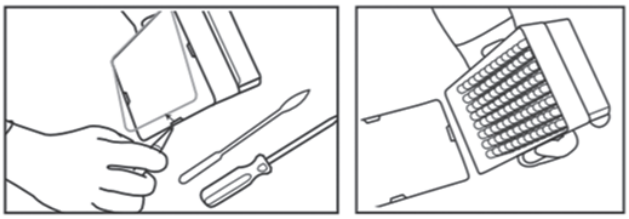
Vorbereitung des Neogen® Molekulare Detektion – Geräts

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.

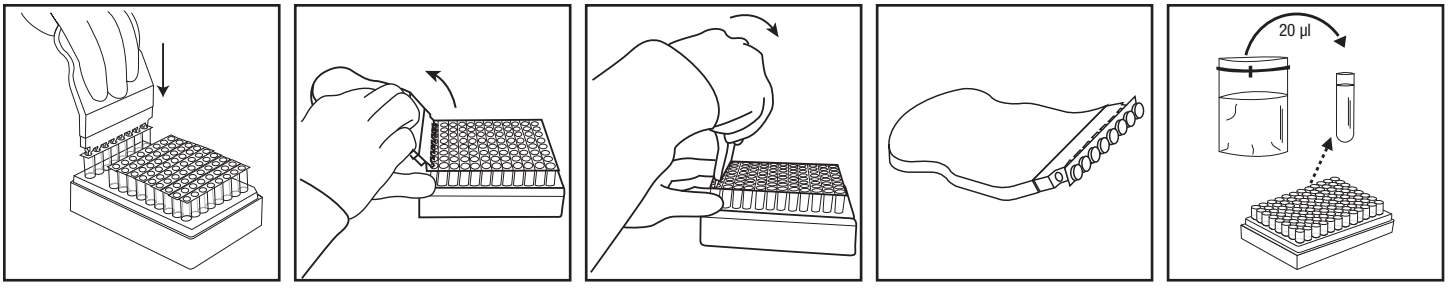
Lyse

Entfernen Sie die Unterseite des Neogen Lyselösungsträgers mit einem Schraubendreher oder Spatel, bevor Sie ihn im Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz platzieren.



1. Die Röhrchen mit der Neogen-Lyselösung sind durch Aufstellen des Racks bei Umgebungstemperatur (20–25 °C) über Nacht (16–18 Stunden) auf Temperatur zu bringen. Alternative Möglichkeiten zur Temperaturangleichung der Neogen-Lyselösung auf Raumtemperatur: Neogen-Lyselösung auf die Laborwerkbank stellen und mindestens 2 Stunden belassen, Röhrchen mit Neogen-Lyselösung in einem Inkubator bei 37 °C± 1 °C 1 Stunde lang inkubieren oder Röhrchen für 30 Sekunden in ein Doppel-Heizblock bei 100 °C ± 1 °C geben.
2. Die verschlossenen Röhrchen zum Mischen umdrehen. Fahren Sie innerhalb von 4 Stunden nach dem Umdrehen mit dem nächsten Schritt fort.
3. Nehmen Sie die angereicherte Probe aus dem Inkubator.
4. Für jede Probe und die Negativkontrollprobe (NC) (steriles Anreicherungsmedium) ist ein Fläschchen Neogen-Lyselösung erforderlich.
   - 4.1 Die Neogen Lyselösung-Gefäßstreifen können auf die gewünschte Neogen Lyselösung-Anzahl an Gefäßen zurechtgeschnitten werden. Wählen Sie die Anzahl der erforderlichen Neogen Lyselösungsgefäße oder 8er Gefäßstreifen 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 übrig bleibt, 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 Schütteln Sie den Anreicherungsbeutel, bevor Sie die Probe von der gefilterten Seite entnehmen, wenn Sie mit zähflüssigen Proben arbeiten.
   - 4.7 Übertragen Sie 20 µl Probe in ein Neogen-Lyselösungsgefäß, sofern nicht anderweitig in der Protokolltabelle angegeben (wie Protokoll 5 und Sekundäranreicherung in RVS oder wenn Sie Umgebungsproben mit Neutralisierungspuffer verwenden).



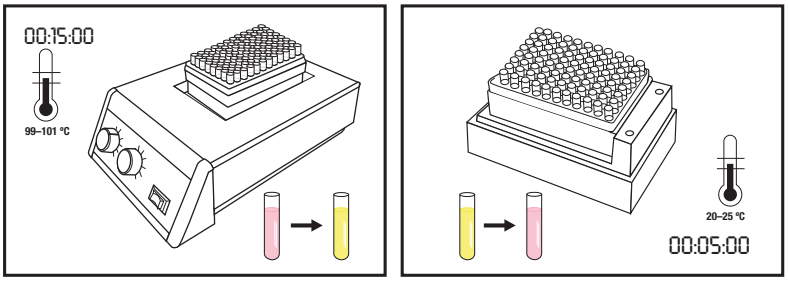
5. Wiederholen Sie Schritt 4.4 bis 4.7, bis jede einzelne Probe in ein zugeordnetes Neogen Lyselösungsgefäß im Streifen gegeben wurde.
6. Sobald Sie alle Proben übertragen haben, übertragen Sie 20 µl der Negativkontrolle (steriles Anreicherungsmedium, z. B. gepuffertes Peptonwasser BPW) in ein Neogen Lyselösungsgefäß. Als NC kein Wasser verwenden.
7. Stellen Sie fest, ob der Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die erforderliche Temperatur von 100 ± 1 °C erreicht hat.

8. Heizschritt: 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 Detektion – Gerät eingesetzt werden.

9. Kühlschritt: Nehmen Sie den Träger ohne Deckel mit den Neogen Lyselösungsgefäßen aus dem Heizblockeinsatz und lassen Sie ihn maximal 5 bis 10 Minuten lang im Neogen Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz abkühlen. Der Neogen Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz wird bei Raumtemperatur verwendet und sollte direkt auf die Laborbank gesetzt werden. Während des Abkühlens nimmt die Neogen-Lysislösung wieder eine rosa Färbung 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 Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis*-Reagenzgefäß erforderlich.

   1.1 Die Gefäßstreifen können auf die gewünschte Anzahl der Gefäße zurechtgeschnitten werden. Wählen Sie die Anzahl der erforderlichen Reagenzgefäße für den Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* oder den 8er Gefäßstreifen.

   1.2 Stellen Sie die Neogen Reagenzröhren in ein leeres Gestell.

   1.3 Vermeiden Sie es, die Reagenzkügelchen im unteren Teil der Gefäße aufzurühren.

2. Wählen Sie ein Gefäß mit Reagenzkontrolle und stellen Sie es in den Gefäßträger.

3. Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, öffnen Sie jeweils nur einen Gefäßstreifen mit Reagenzkontrolle und verwenden Sie bei jeder einzelnen Übertragung eine neue Pipette.

4. Führen Sie jedes Lysat wie unten beschrieben in ein Reagenzröhrchen des „Neogen Molekulare Detektion Assay 2 – *Salmonella*“ und in ein Neogen-Kontrollreagenzröhrchen über:

   Übertragen Sie jedes Probenlysat **zuerst** in die einzelnen Reagenzgefäße und danach die NC. Hydrieren Sie das Gefäß mit Neogen Reagenzkontrolle **als letztes**.

5. Öffnen Sie die Reagenzgefäße für den Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* mit dem Neogen® Molekulare Detektion – Cap/Decap-Werkzeug – Reagenz, und zwar immer nur einen Streifen auf einmal. Entsorgen Sie die Kappe.

   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 Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis*. Pipettieren Sie schräg in die Gefäße, um ein Aufrühren der Kügelchen zu vermeiden. Mischen Sie anschließend den Gefäßinhalt, indem Sie ihn 5 Mal vorsichtig auf und ab pipettieren.**

   5.2 Wiederholen Sie Schritt 5.1, bis Sie jedes einzelne Probenlysat einem entsprechenden Reagenzgefäß für die Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* im Streifen hinzugefügt haben.

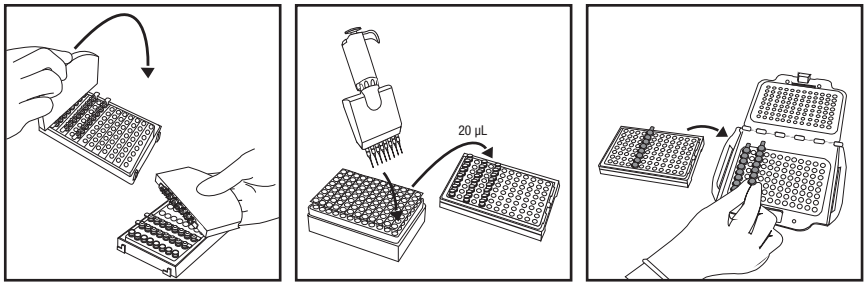
   5.3 Verschließen Sie die Reagenzgefäße für den Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* mit den mitgelieferten zusätzlichen Kappen und üben Sie mit der abgerundeten Seite des Neogen Molekulare Detektion – Cap/Decap-Werkzeugs – Reagenz in einer Vorwärts- und Rückwärtsbewegung Druck aus, 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 und 5.3, um 20 µl des NC-Lysats in ein Reagenzgefäß für den Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* 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 vorsichtig 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. Den konfigurierten Durchgang in der Neogen Software für molekulare Detektion prüfen und bestätigen.
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 Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* sowie Gefäße mit Neogen Reagenzkontrolle und Neogen Matrixkontrolle. Entsorgen Sie die verschlossenen Reagenzgefäße, indem Sie sie 1 Stunde lang in ausreichender Entfernung vom Vorbereitungsbereich in einer 1–5%igen Haushaltsbleichmittellösung (v:v in Wasser) einweichen.

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 für Laboratorien oder durch das anschließende Referenzverfahren[1,2,3] bestätigt werden, beginnend mit der Übertragung aus der Erstanreicherung mit in die Zweitanreicherungsbouillon, gefolgt von anschließendem Ausplattieren und Bestätigen von Isolaten mittels geeigneter biochemischer und serologischer Verfahren.

HINWEIS: Selbst ein negatives Ergebnis führt nicht zu einem Ergebnis von null, da das System und die Amplifika- tionsreagenzien der Neogen Molekularen Detektions 2 – *Salmonellen Nachweis* 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.

Tabelle 5. Symbole und Informationen zu verschiedenen Softwareergebnissen.

Vertiefungstyp	Vertiefungsergebnissymbol	Ergebnis	Interpretation
Probe		Positiv	Die Probe wird vorläufig positiv für das Zielpathogen betrachtet.
Probe		Negativ	Die Probe wird negativ für das Zielpathogen betrachtet.
Probe		Gehemmt	Die Probenmatrix hat den Nachweis gehemmt. Ein neuer Test ist erforderlich.
Probe		Zu überprüfen	Das Vorhandensein oder Fehlen des Zielpathogens war nicht ermittelbar. Ein neuer Test ist erforderlich.
Probe		Fehler	Keine Bioluminszenz festgestellt. Ein neuer Test ist erforderlich.

* Weitere Einzelheiten zu den Ergebnissen entnehmen Sie bitte dem Laufbericht. Wenden Sie sich bei Bedarf an Ihren Neogen-Vertreter vor Ort, um Unterstützung bei der Fehlerbehebung zu erhalten.

Bestätigung der Ergebnisse anhand der zertifizierten NF VALIDATION-Methode

Alle im Rahmen der NF VALIDATION vom Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* als positiv identifizierte Proben müssen durch einen der nachfolgenden Tests bestätigt werden:

Option 1: Nach ISO 6579[3] standardmäßig mit Anreicherung von gepuffertem Peptonwasser[3].

Option 2: Durchführung eines Bestätigungsverfahrens mit Folgendem: Übertragen Sie 0,1 ml BPW ISO[3] Anreicherungs- oder Tetrathionatbouillon (Primärproduktionsproben) in 10 ml RVS-Bouillon. Inkubieren Sie für 24 ± 3 Stunden bei 41,5 °C. Streichen Sie auf Xyloselysindeoxycholat (XLD)[3]-Agar oder ein chromogenes Agar speziell für *Salmonellen*. Führen Sie eine Latexagglutination mithilfe von Oxoid *Salmonellen*-Latextest direkt auf den isolierten Kolonien durch.

Option 3: Verwendung von Nukleinsäuresonden gemäß der Norm EN ISO 7218:2024[5], durchgeführt an isolierten Kolonien aus XLD- oder chromogenem Agar (siehe Option 1 oder 2). Dieser Test darf nicht mit der Neogen Molekularen Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* durchgeführt werden.

Option 4: Beim Verwenden einer anderen zertifizierten NF VALIDATION-Methode muss sich das grundsätzliche Verfahren von dem Neogen Molekularen Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis* unterscheiden. Das gesamte für diese zweite gesicherte Methode beschriebene Protokoll muss befolgt werden. Vor dem Beginn der Bestätigung müssen alle Schritte für beide Methoden allgemein bekannt sein.

Bei abweichenden Ergebnissen (mutmaßlich positiven beim Neogen Molekulare Detektion 2 – *Salmonellen Nachweis*, unbestätigten Ergebnissen eines der zuvor genannten Verfahren und insbesondere für die Latexpartikel-Agglutination) muss das Labor die erforderlichen Maßnahmen befolgen, um die Richtigkeit der erhaltenden Ergebnisse sicherzustellen.

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.

Anhang A. Protokoll-Unterbrechungen: Lagerung und erneutes Testen von wärmeb ehandelten Lysaten

1. Um ein wärmebehandeltes Lysat zu lagern, setzen Sie eine saubere Kappe auf das Lysegefäß (siehe **Lyse**, Abschnitt 4.5).
2. Lagern Sie sie bis zu 72 Stunden bei 4 bis 8 °C.
3. Bereiten Sie eine gelagerte Probe zur Amplifikation vor, indem Sie sie zum Mischen 2 bis 3 Mal umdrehen.
4. Entkappen 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 Heizblockeinsatz und lassen Sie ihn maximal 5 bis 10 Minuten lang im Neogen Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz abkühlen.
7. Setzen Sie das Protokoll ab dem oben beschriebenen Abschnitt **Amplifikation** fort.

Literaturnachweise:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.10. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and siluriformes (fish) products and carcass and environmental sponges. Effective Date: 2 January 2019.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
7. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
8. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
9. 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.
10. ISO 18593:2018. Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling.
11. US Food and Drug Administration – *Bacteriological Analytical Manual*, Medium M111: Nonfat Dry Milk (Reconstituted). January 2011.
12. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain - part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
13. ISO 6887 (all parts). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
14. Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimmings and Bench Trim | Food Safety and Inspection Service https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-notice/05-23
15. USDA/FSIS Letter of No Objection (NOL) for the MicroTally® Mitt food surface sampler. https://microtally.com/wp-content/uploads/2025/01/Poultry-Mitt-NOL.pdf

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 2026. All rights reserved.
Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
All other trademarks are the property of their respective companies.

© 2026, Neogen. Tous droits réservés.
Neogen est une marque de commerce de Neogen.
Toutes les autres marques de
commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.
FS00869B

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

Fecha de emisión: 2026-02

Instrucciones del Producto

Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen®

Descripción del producto y uso previsto

El Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen® se usa junto con el Sistema de Detección Molecular Neogen® para la detección rápida y específica de *Salmonella* en muestras enriquecidas ambientales de procesos alimentarios, alimentos y alimento para animales.

Los Ensayos de Detección Molecular Neogen® usan amplificación isotérmica tipo LAMP (por sus siglas en inglés) para amplificar rápidamente las secuencias de ácidos nucléicos 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 muestran una vez terminado el ensayo. Los resultados presuntamente positivos se deben confirmar con su método de preferencia, o según se especifique en las regulaciones locales[1, 2, 3].

El Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* 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 de Detección Molecular 2 para *Salmonella* 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 en el ambiente del usuario usando un número suficiente de muestras de alimentos en particular con retos microbiológicos para asegurarse que el método cumple los criterios del usuario

Neogen ha evaluado el Ensayo de detección molecular de Neogen 2 - *Salmonella* con agua con peptona tamponada (BPW) ISO como caldo de enriquecimiento.

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 microorganismos presentes en la muestra. Las muestras que no se hayan tratado debidamente con calor durante el paso de lisis 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 de Detección Molecular 2 para *Salmonella* 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 de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen®	Tubos verdes	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mezcla de detección y amplificación específica liofilizada	Listos para usar
Tapas adicionales	Tapas verdes	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listas para usar
Control de Reactivos Neogen® (RC)	Tubos transparentes con tapa de bisagra	16 (2 bolsas de 8 tubos individuales)	Mezcla de control de ADN liofilizado, amplificación y detección	Listos para usar

El Control Negativo (NC), no provisto en el kit, es un medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, BPW ISO. No use agua como NC.

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y Seguir toda la información de seguridad incluida en las instrucciones para el Sistema de Detección Molecular Neogen y el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* 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 de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen para el diagnóstico de afecciones en seres humanos ni animales.

El usuario debe capacitar a su personal en técnicas de prueba adecuadas actuales: por ejemplo, Buenas Prácticas de Laboratorio[4], norma ISO 7218:2024[5] o la guía de Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos (BMBL) de los CDC.[6].

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 de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen como se indica en el empaque y en las instrucciones del producto.
- Use siempre el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen antes de su fecha de vencimiento.
- Use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen con muestras enriquecidas ambientales de procesos alimentarios, alimentos y alimento para animales que hayan sido validadas internamente o por un tercero.
- Use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen solo con superficies, sanitizantes, 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. Los productos para toma de muestras Neogen® que incluyen solución amortiguadora neutralizante con complejo de aril sulfonato: 700002040 | RS96010NB, 700002011 | RS9604NB 700002003 | SSL10NB, 700002004 | SSL10NB2G, 700002213 | HS10NB y 700002002 | HS10NB2G.

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 según lo establecen los estándares locales, regionales y nacionales.
- 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 contaminación ambiental:

- Siga las normativas locales, regionales y nacionales en cuanto a los requisitos de eliminación.

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

- No exceda la temperatura recomendada en el calentador.
- No exceda el tiempo de calentamiento recomendado.
- Use un termómetro calibrado adecuado para verificar la temperatura del Bloque de calentamiento para el Sistema de Detección Molecular Neogen® (p. 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 calentamiento del 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 las perlas de reactivos.
- Se recomienda usar puntas de pipetas estériles de grado biología molecular con filtro para aerosoles (con filtro).
- Use una punta nueva 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 abrir/cerrar, etc.) con una solución de cloro de uso doméstico del 1% al 5% (v:v en agua) o en una solución para eliminación de ADN.

Para reducir los riesgos relacionados con un resultado falso positivo:

- Nunca abra a 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 introduzca al 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 microbiológicos 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 la idoneidad para el propósito del método durante la implementación, Neogen ha desarrollado el Kit de Control de Matriz de Detección Molecular Neogen (también llamado control de amplificación en ISO 24914:2026[7]). Use el control de la matriz para evaluar la interferencia de la matriz con los resultados del Ensayo de detección molecular Neogen 2: Salmonella durante la validación y verificación. Sigue la norma ISO 16140-3:2021[8] y/o el programa de aseguramiento de calidad de su organización para determinar el número representativo de muestras necesarias al verificar el desempeño del método y definir el alcance de su aplicación en su laboratorio. El uso rutinario Control de Matriz de Detección Molecular Neogen no es necesario una vez que el método ha sido verificado y se ha establecido el alcance de aplicación en laboratorio. Siga el programa de aseguramiento de la calidad de su organización para determinar caso por caso la necesidad del Control de Matriz de Detección Molecular Neogen y su frecuencia de uso durante las pruebas rutinarias.

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

Limitación de garantía/Recurso limitado

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA O EN EL EMPAQUE 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 si tuviera 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.

Para consultar los términos y condiciones completos de Neogen, visite: https://www.neogen.com/en/terms-and-conditions/

Almacenamiento y desecho

Almacene el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen entre 2 °C y 8 °C. 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 cerradas a una temperatura entre 2 °C y 8 °C durante 60 días como máximo.

No utilice el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* 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 de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen podrían contener materiales patógenos. Una vez finalizadas las pruebas, siga los reglamentos locales, regionales y nacionales para la eliminación de desechos 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 mesas y equipos de laboratorio (pipetas, herramientas de abrir/cerrar, gradilla para tubos de reactivos, etc.) con una solución de cloro de uso doméstico del 1 y el 5 % (v:v en agua) o una solución de remoción de ADN.

El usuario debe completar la capacitación de calificación del operador 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"[9].

Consulte la Sección "Instrucciones específicas para los métodos validados" para obtener requisitos específicos:

Tabla 3 para los protocolos de enriquecimiento según el AOAC® *Official Method of Analysis℠* **2016.01** y el Certificado AOAC® *Performance Tested℠* **n.° 091501**.

Tabla 4 para los protocolos de enriquecimiento según el Certificado NF VALIDATION **3M 01/16 -11/16**.

Enriquecimiento de la muestra

Las tablas 2, 3 y 4 presentan directrices para protocolos generales de enriquecimiento para muestras de alimentos, piensos y muestras ambientales.

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.

Alimentos

1. Permita que el medio de enriquecimiento (BPW ISO) alcance un equilibrio con la temperatura ambiente del laboratorio o a 41,5 ± 1 °C según la matriz analizada. Consulte las Tablas 2, 3 o 4.
2. Combine el medio de enriquecimiento y la muestra de forma aséptica.
3. Homogenice completamente en homogeneizador peristáltico o licuadora, o bien mezcle la preparación manualmente durante 2 ± 0,2 minutos o hasta que los grumos se disuelvan por completo y la suspensión de enriquecimiento se vea homogénea[13].
   a. Para todas las muestras con alto contenido de partículas y carne, se recomienda utilizar bolsas con filtro.
   b. Para matrices que aumentan de tamaño en agua y son altamente viscosas (ej, cereales y almidones), se sugiere hacer diluciones adicionales (>1:10) hasta que la viscosidad se reduzca adecuadamente o agregar alfa-amilasa estéril al 1 % (p/v) al medio de enriquecimiento (BPW ISO)[13].
   c. Para muestras grandes de leche en polvo y cereales, agregue la muestra al líquido lentamente y mezcle con frecuencia para evitar grumos.
4. Incube como se indica en la tabla del protocolo correspondiente (consulte las tablas 2, 3 o 4).

Muestras ambientales

Los dispositivos de toma de muestras pueden ser esponjas hidratadas con una solución neutralizante para inactivar los efectos de los sanitizantes. Neogen recomienda el uso de una esponja de celulosa libre de biocidas. La solución neutralizante puede ser el caldo neutralizante Dey-Engley (D/E) o el caldo Letheen. Se recomienda sanear el área después de la toma de muestras.

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.

El tamaño del área de muestra recomendado para verificar la presencia o ausencia del patógeno en la superficie es de al menos 100 cm^2 (10 cm x 10 cm o 4" x 4"). Cuando se toma la muestra con una esponja, cubra toda el área en dos direcciones (de izquierda a derecha y de arriba a abajo), o tome las muestras ambientales de acuerdo con su protocolo actual para la toma de muestras o según las directrices de FDA BAM[1], USDA FSIS MLG[2] o ISO 18593:2018[10].

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.

1. Caliente previamente el medio de enriquecimiento BPW ISO a 41,5 °C ± 1 °C según la matriz analizada. Consulte las Tablas 2, 3 o 4.
2. Combine asépticamente el medio de enriquecimiento y la muestra de acuerdo con las Tabla 2, 3 o 4. Para todas las muestras de carne y con muchas partículas, se recomienda el uso de bolsas con filtro.
3. Homogenice completamente mezclando bien, usando homogeneizador peristáltico o mezclando a mano durante 2 ± 0,2 minutos. Incubar según lo indicado en la tabla de protocolos correspondiente. Ver Tabla 2, 3 o 4.

Dispositivo de muestreo

1. Para paños, siga las indicaciones del FSIS descritas en el *Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimming and Bench Trim*[14], muestreando la matriz con el paño durante 90 s, 45 s por lado.

2. Para guante o enguantados: siga las indicaciones establecidas en la Carta de no objeción del servicio de investigación agrícola del USDA[15] humedeciendo previamente el guante con 25 ml de nBPW y restregando la matriz durante 15 s en un lado. De vuelta el guante y frótelo durante 15 segundos más. Doble el guante por dos y dos otra vez y colóquelo en la bolsa de muestreo.
3. Permita que el medio de enriquecimiento BPW ISO se equilibre a 41,5 ±1 °C.
4. Combine asépticamente el medio de enriquecimiento y la muestra, asegurándose de que el dispositivo de muestreo quede sumergido.
5. Mezcle a mano o con el homogeneizador peristáltico todas las muestras durante al menos 30 segundos. Asegúrese de que el dispositivo de muestreo se localice hasta el fondo de la bolsa, se sumerja en el medio de cultivo e incube según lo indicado en la tabla de protocolos apropiados (ver la Tabla 2 o 3).

Tabla 2. Protocolos generales de enriquecimiento.

Matriz de muestra	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra (µL)[a]
Protocolo 1 Productos alimentarios procesados (con excepción de polvos de huevo y otros productos especificados en otros protocolos)[b]	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-26	20
Protocolo 2 Alimentos crudos y no procesados, huevo en polvo, alimentos para animales y muestras ambientales[c]	25 g	225 mL de BPW ISO (precalentada)	41,5	18-26	20
Protocolo 3 Productos lácteos en polvo (incluidas fórmulas infantiles y fórmulas infantiles base soya)	25 g	225 mL de BPW ISO	37	20-26	20
Protocolo 4 Productos a base de cacao (cacao en polvo, chocolates, productos de confitería, etc.)	25 g	225 mL de leche descremada en polvo estéril (100 g/L) con 0,002% de tintura verde brillante[d,e,f]	37	24-30	20
Protocolo 5 Otros incluyen: especias, hierbas aromáticas, concentrados, tés y cafés instantáneos, cubos de caldo	25 g	235 mL 2X BPW ISO con 0,5% K_2SO_3 + 240 mL de leche descremada en polvo estéril (100 g/L)[d,g,h]	37	24-30	10
Protocolo 6 Nueces o mezclas de frutos secos con nueces (este protocolo es apropiado para otros frutos secos tales como nueces pecanas, almendras, pistachos, castañas de cajú y castañas)	25 g	225 mL de leche descremada en polvo estéril (100 g/L)[d]	37	18-24	20
Protocolo 7 zapatones	1 par – 2 zapatones	225 ml 2X BPW ISO[i]	37	20-26	10
Protocolo 8 Zapatones (con alta concentración de calcio)	1 par – 2 zapatones	225 ml 2X BPW ISO (tras enriquecimiento, transferencia de 1 ml a 9 ml BPW ISO o 100 µL a 9,9 ml BPW ISO)[i,j]	37	20-26	10
Protocolo 9 Dispositivo de muestreo (corte de ternera cruda, partes crudas aves de corral, carcasa cruda aves de corral, corte de cerdo crudo)	1 tela o 1 guante	200 ml BPW ISO (precalentado)	41.5	10-24	20

(a) Volumen de muestra transferido a los tubos de Solución de Lisis. Consulte el paso 4.7 de la sección Lisis.

(b) Ejemplos de productos que se deben analizar con el Protocolo 1: comidas listas para usar, ensaladas delicatessen, natillas.

(c) Ejemplos de productos que se deben analizar con el Protocolo 2: carnes crudas, vegetales todos los quesos fermentada, ensaladas crudas (lechuga, Batavia).

(d) La leche descremada UHT puede substituirse por leche descremada en polvo.

(e) 0,45 mL de 1% de solución colorante acuosa verde brillante por 225 mL de leche descremada, lo que dará como resultado una concentración final de 0,002% (0,02 g/L) de solución colorante verde brillante.

(f) Para preparar leche descremada en polvo estéril, suspenda 100 g de leche descremada en polvo deshidratada en 1 L de agua destilada o purificada. Agitar hasta que se disuelva. Autoclave por 15 minutos a 121 °C. Almacene a 2 °C y 30 °C[11].

(g) 5 g de K_2SO_3 por 1000 mL BPW ISO, lo que dará como resultado una concentración final de 0,5% K_2SO_3.

(h) Deberá añadirse 240 mL 100 g/L de leche descremada en polvo estéril a 235 mL 2X BPW ISO esterilizado con 0,5% K_2SO_3.

(i) Preparado a doble concentración.

(j) Cuando los hisopos de la bota tienen una alta concentración de calcio, se requiere una dilución de 1:10 o 1:100 del medio enriquecido: Transfiere 1 mL del medio enriquecido a 9 mL de BPW ISO (dilución 1:10) o de 100 µL a 9,9 mL de BPW (dilución 1:100).

Si se usa un paso de enriquecimiento secundario opcional, por ejemplo Medio Rappaport Vassiliadis, se requiere realizar una disolución de 1:2 (1 parte de enriquecimiento en 1 pate de caldo de enriquecimiento estéril) o simplemente transferir 10 μL del enriquecimiento secundario a los tubos de Solución Lysis Neogen. Si se utiliza Caldo de Tetrationato (TT), transfiera 20 μL del enriquecimiento secundario a los tubos de Solución Lysis Neogen, y no utilice un agitador eléctrico para enriquecimiento TT ni utilice una pipeta que llegue al fondo del tubo de enriquecimiento para evitar transferir algún precipitado.

Instrucciones específicas para métodos validados

AOAC® *Official Methods of Analysis℠* 2016.01

AOAC® *Performance Tested℠* Certificate #091501

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 091501

En los programas OMA℠ y PTM℠ de AOAC Research Institute, se encontró que el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen era un método efectivo para la detección de *Salmonella*. Las matrices evaluadas en el estudio se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Protocolos de enriquecimiento de acuerdo con el certificado #091501 de AOAC OMA℠ 2016.01 y AOAC PTM℠. El volumen de muestra transferido a los tubos de Solución de Lisis Neogen es de 20 µL Excepto para zapatones[a].

Matriz de muestra	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)
Carne molida cruda	25 g	225 mL de BPW ISO (precalentada)	41,5	10-24
	325 g	975 mL de BPW ISO (precalentada)		
Carne de ave molida cruda	25 g	225 mL de BPW ISO (precalentada)	41,5	10-24
	325 g	975 mL de BPW ISO (precalentada)	41,5	14-24
Pollo empanizado cocido	325 g	2925 mL de BPW ISO	37	18-24
Alimento para perros seco	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-24
	375 g	1500 mL de BPW ISO		

Pimienta negra, camarón entero crudo, espinaca cruda empaquetada, queso americano procesado pasteurizado		25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-24
Enjuague de carcasa de ave		30 mL	30 mL de BPW ISO (precalentada)	41,5	18-24
Esponja de carcasa de ave		1 esponja	50 mL de BPW ISO (precalentada)	41,5	18-24
Leche descremada en polvo instantánea		25 g	225 mL de BPW ISO	37	20-24
Cocoa en polvo		25 g	225 mL de BPW ISO	37	24-28
Huevo entero líquido pasteurizado		100 mL	900 mL de BPW ISO	37	18-24
Agua de irrigación de germinados		375 mL	3375 mL de BPW ISO	37	18-24
Mantequilla de maní cremosa		25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-24
		375 g	3375 mL de BPW ISO		
Flor de cannabis seca, planta de cannabis seca [b]		10 g	90 BPW-ISO	41.5	28-32
Zapatones[a]		1 par – 2 zapatones	225 ml 2X BPW ISO[c]	37	20-26
zapatones (con alta concentración de calcio)[a]		1 par – 2 zapatones	225 ml 2X BPW ISO tras enriquecimiento transfieren 1 mL a 9 mL BPW ISO o 100 µL a 9,9 mL BPW ISO [c, d]	37	20-26
Dispositivo de muestreo (corte de ternera cruda, corte de cerdo crudo)		1 paño[e]	200 mL BPW ISO (precalentado)	41.5	10-24
Dispositivo de muestreo (partes crudas aves de corral, carcasa de aves)		1 guante[e]	200 mL BPW ISO (precalentado)	41.5	10-24
Ambiental	Concreto sellado	1 esponja	225 mL de BPW ISO (precalentada)	41,5	18-24
	Acero inoxidable	1 hisopo	10 mL de BPW ISO (precalentada)	41,5	18-24
	Mosaico de cerámica sellado	1 esponja	50 mL de BPW ISO (precalentada)	41,5	18-24

Matriz de muestra	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Medio de enriquecimiento secundario (mL)	Temperatura de enrique-cimiento secundaria (± 1 °C)	Tiempo de enrique-cimiento secundario (horas)
Camarón crudo con cabeza	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-24	R-V R10: 0.1 mL en 10 mL[a]	41,5	4-24

(a) Transfiera 10 µL de la muestra enriquecida a los tubos de Solución de Lisis. Consulte el paso 4.7 de la sección Lisis.

(b) Flor de cannabis seca (>0.3 % THC) y planta de cannabis seca (≤0.3 % THC)

(c) Preparado a doble concentración.

(d) Cuando los zapatones tienen una alta concentración de calcio, se requiere una dilución de 1:10 o 1:100 del medio enriquecido: Transfiere 1 mL del medio enriquecido a 9 mL de BPW ISO (dilución 1:10) o de 100 µL a 9,9 mL de BPW ISO (dilución 1:100).

(e) Prehumedecer con 25 mL de nBPW

NF VALIDATION por AFNOR Certification

3M 01/16 -11/16
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
http://nf-validation.afnor.org/en

Para más información acerca de la finalidad de la validez, consulte el certificado de NF VALIDATION disponible en el sitio web mencionado anteriormente.

El método de certificación de VALIDACIÓN NF en cumplimiento con ISO 16140-2:2016[12] en comparación con ISO 6579:2017[3].

Alcance de la validación: todos los productos de alimentos para humanos, las muestras ambientales de producción (incluidas las muestras de producción primaria) y los productos alimentarios para animales y mascotas mediante ensayos de validación en un amplio rango de alimentos.

Preparación de la muestra: Las muestras se deben preparar de acuerdo con las normas EN ISO 6579:2017[3] y EN ISO 6887[13].

Versión de Software: consulte el certificado.

Tabla 4. Protocolos de enriquecimiento según el Certificado NF VALIDATION 3M 01/16 -11/16.

Protocolo	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento	Temperatura de enriquecimiento (+1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra (µL)[a]
Protocolo 1: • Amplio rango de alimentos procesados (excluyendo huevo en polvo, frutas y vegetales procesados y productos especificados en otros protocolos) • Todos los pescados y mariscos crudos • Comida para mascota y alimento para animales • Producción primaria (no fecal)	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18-26	20
Protocolo 2: • Amplio rango de alimentos crudos y no procesados (excluyendo el pescado crudo y los mariscos crudos, y los productos especificados en otros protocolos) • Huevo en polvo • Todas las frutas y vegetales • Muestras ambientales de la producción de alimentos	25 g o 1 toallita o 1 hisopo	225 mL de BPW ISO precalentado	41,5	18-26	20
Protocolo 3: • Productos lácteos en polvo	25 g	225 mL de BPW ISO	37	20-26	20
Protocolo 4: • Productos a base de cocoa que contengan más del 20% de cocoa	25 g	225 mL de leche descremada UHT + 0,002 % verde brillante	37	24-30	20
Protocolo 5: • Especias, hierbas aromáticas, concentrados, tés, cafés, preparaciones culinarias	25 g	235 mL 2 x BPW ISO + K_2SO_3 0,5 % + 240 mL de leche descremada UHT	37	24-30	10
Protocolo 6: • Carne cruda	25 g	225 mL de BPW ISO precalentado	41,5	10-24	20
Protocolo 7: • Producción primaria (fecal)	1 zapatón	100 mL en caldo Tetrationato	37	22-24	20
	25 g	225 mL de caldo Tetrationato			
Protocolo 8: • Fórmulas infantiles, cereales infantiles, productos lácteos en polvo sin probióticos[b]	375 g	3375 mL de BPW ISO precalentado	37	20-26	20
Protocolo 9: • Fórmulas infantiles, cereales infantiles, productos lácteos en polvo con probióticos[b]	375 g	3375 mL de BPW ISO precalentado + vancomicina (10 mg/L)	37	20-26	20

(a) Volumen de muestra transferido a los tubos de Solución de Lisis. Consulte el paso 4.7 de la sección **Lisis**.

(b) Para muestras grandes de productos en polvo y cereales, agregue la muestra al líquido y mezcle con frecuencia para evitar grumos.

NOTAS:

- Las muestras de más de 25 g no han sido sometidas a prueba, excepto en los protocolos 8 y 9 en el estudio de NF VALIDATION.
- Estos protocolos de enriquecimiento corto son sensibles a las condiciones de incubación. Se requiere cumplir con las condiciones de temperatura que se indican en las especificaciones técnicas. El usuario deberá verificar que el precalentamiento del caldo de enriquecimiento alcance la temperatura requerida antes de la incubación. El tiempo de preparación de las muestras, la demora entre el final del paso de precalentamiento del caldo de enriquecimiento y el comienzo del paso de incubación de la muestra de alimento, no debe superar los 45 minutos. Se recomienda utilizar una incubadora con ventilador durante la incubación.
- **Para la transferencia de los caldos de enriquecimiento Tetrationato (TT) a los tubos de Solución Lysis Neogen, no utilice un agitador eléctrico ni utilice una pipeta que llegue al fondo del tubo de enriquecimiento para evitar transferir algún precipitado. La transferencia de algún precipitado puede resultar en la obtención de resultados inválidos.**
- Los puntos de interrupción del protocolo recomendados corresponden a después del enriquecimiento o después de la lisis de las muestras. El caldo de enriquecimiento o el lisado de muestra se puede almacenar a 2 °C y 8 °C por hasta 72 horas. Después de retirar el caldo de enriquecimiento del almacenamiento, retome la prueba desde el Paso 1 en la sección **Lisis**. Después de retirar el lisado de muestra del almacenamiento, retome la prueba desde el Paso 8 en la sección **Lisis**.

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.

Para este procedimiento se requieren dos Bloques Insertables de Calentamiento/Enfriamiento del Detección Molecular Neogen de detección molecular Neogen. Ambos bloques insertables son el mismo producto (700000145) pero se utilizan para funciones diferentes.

Para mayor claridad dentro del procedimiento, el insertable utilizado para el paso de calentamiento se denominará Bloque Insertable de Calentamiento de Detección Molecular, y el insertable utilizado para el paso de enfriamiento se denominará Bloque Insertable de Enfriamiento de Detección Molecular. Estas designaciones se utilizan únicamente para distinguir sus funciones y no indican productos separados.

Preparación del Bloque Insertable de Enfriamiento de Detección Molecular Neogen®

Coloque el Bloques Insertable de Enfriamiento de Detección Molecular Neogen® directamente sobre la mesa del laboratorio. Use el bloque a temperatura ambiente del laboratorio (entre 20 °C y 25 °C).

Preparación del Bloque Insertable de Calentamiento de Detección Molecular Neogen®

Coloque el Bloques Insertable de Calentamiento de Detección Molecular Neogen® en una unidad doble de calentamiento seca. Encienda la unidad de calentamiento de bloques seca y ajuste la temperatura para permitir que el Bloque Insertable de Calentamiento 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 Insertable de Calentamiento de Detección Molecular Neogen alcance la temperatura deseada. Con un termómetro calibrado apropiado (ej. un termómetro de inmersión parcial o un termómetro digital termopar, no use termómetro de inmersión total) colocado en la ubicación designada, verifique que el Bloque Insertable de Calentamiento de Detección Molecular Neogen se encuentre a 100 °C ± 1 °C.

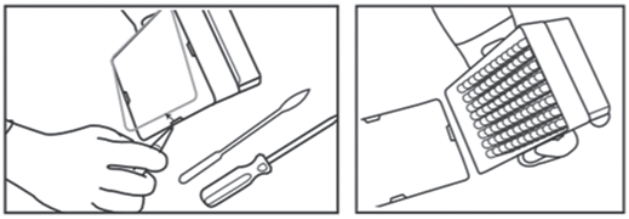
Preparación del Equipo de Detección Molecular Neogen®

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 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.

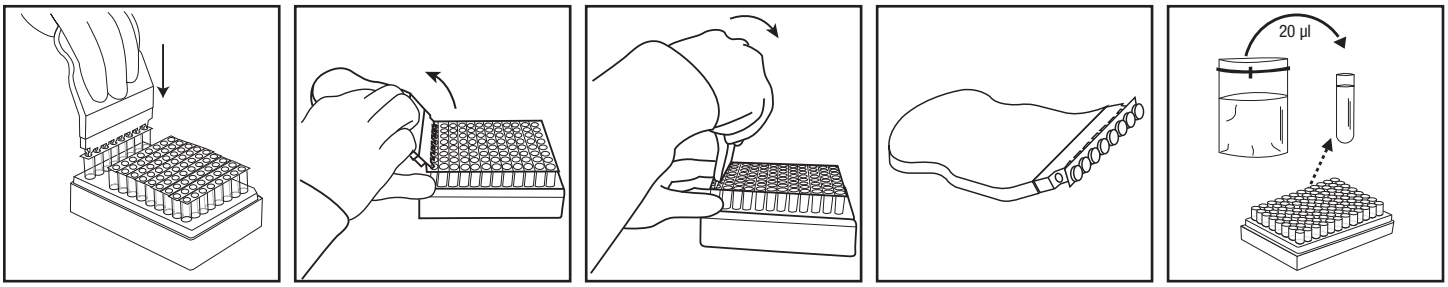
Lisis

Retire la parte inferior de la Gradilla para Solución de Lisis de Neogen con un destornillador o una espátula antes de colocarla en el Bloque Insertable de Calentamiento de Detección Molecular Neogen.

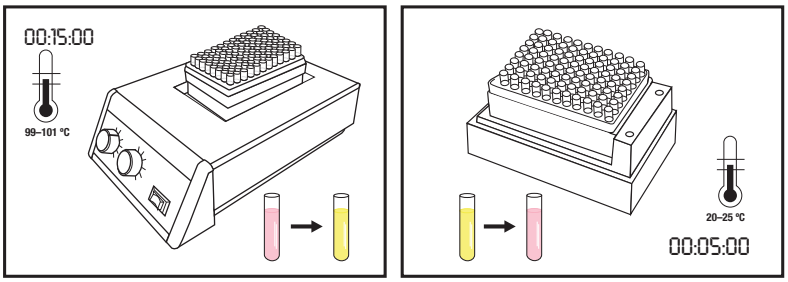


1. Permita que los tubos de la solución de lisis Neogen se atemperen colocando la gradilla a temperatura ambiente (20-25 °C) durante la noche (entre 16 y 18 horas). Las alternativas para atemperar los tubos de solución de lisis Neogen es colocar los tubos sobre una meseta de laboratorio durante al menos 2 horas, incubar los tubos de solución de lisis Neogen en una incubadora a 37 ± 1 °C durante 1 hora o colocarlos en un bloque de calentamiento seco doble durante 30 segundos a 100 ± 1 °C.
2. Invierta los tubos tapados para mezclar. Proceder al siguiente paso en menos de 4 horas después de invertir.
3. Retire las muestras enriquecidas de la incubadora.
4. Se requiere un tubo de solución de lisis Neogen para cada muestra y control negativo 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 de la Solución de Lisis Neogen. Elija la cantidad de tubos necesarios de Solución de Lisis Neogen individuales o tiras de 8 tubos. 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 punta de pipeta nueva 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 tapar/destapar 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 recipiente limpio para su repetición luego de la lisis.
     - 4.5.1 Para procesar el lisado almacenado, consulte el Apéndice A.
   - 4.6 Cuando trabaje con muestras viscosas, agite la bolsa de enriquecimiento antes de recolectar la muestra del lado filtrado.
   - 4.7 Transfiera los 20 µL de muestra a un tubo de Solución de Lisis Neogen a menos que se indique lo contrario en la tabla de protocolos (por ejemplo, el protocolo 5 y el enriquecimiento secundario en RVS o cuando se utilizan muestras ambientales con una solución neutralizante).



5. Repita los pasos 4.4 al 4.7 hasta que cada muestra individual se haya agregado al correspondiente tubo de Solución de Lisis Neogen de la tira.
6. Cuando se hayan transferido todas las muestras, transfiera 20 µL del NC (medio de enriquecimiento esteril. Ej. BPW) a un tubo de Solución de Lisis Neogen. No use agua como un NC.
7. Verifique que la temperatura del Bloque Insertable de Calentamiento de Detección Molecular Neogen sea de 100 °C ± 1 °C.
8. Paso de calentamiento: Coloque la gradilla sin tapar de tubos de Solución de Lisis Neogen en el Bloque Insertable de Calentamiento 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. Paso de enfriamiento: Retire la gradilla descubierta de tubos de Solución de Lisis Neogen del bloque de calentamiento y deje que se enfríe en la Bloque Insertable de Enfriamiento de Detección Molecular Neogen al menos durante 5 minutos y por un máximo de 10 minutos. Cuando se usa el Bloque Insertable de Enfriamiento de Detección Molecular Neogen a temperatura ambiente, debe colocarse directamente sobre la mesa del laboratorio. Durante el enfriamiento, la solución de lisis de Neogen volverá a un color rosa.
10. Retire la gradilla de tubos de Solución de Lisis Neogen de la Inserción del Bloque Insertable de Enfriamiento de Detección Molecular Neogen.

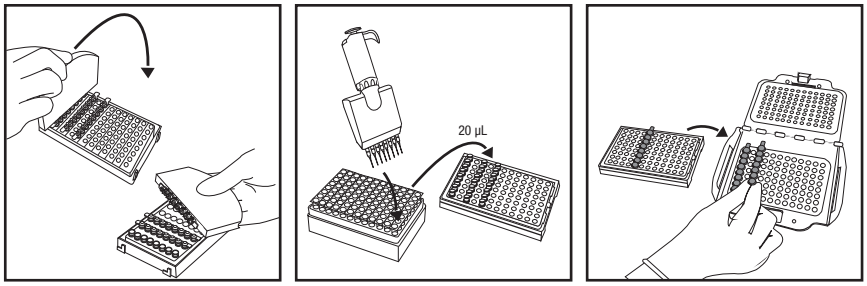


Amplificación

1. Se necesita un Tubo de Reactivo del Ensayo de Detección Molecular 2 de para *Salmonella* Neogen por cada muestra y el NC.
   1.1 Las tiras de tubos pueden cortarse para obtener la cantidad de tubos deseada. Elija la cantidad de Tubos de Reactivos del Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen o tiras de 8 tubos según sea necesario.
   1.2 Coloque los tubos de reactivos 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 y colóquelo en la gradilla.
3. Para evitar la contaminación cruzada, destape una tira de tubo de reactivo a la vez y use una punta nueva de pipeta para cada paso de transferencia.
4. Transfiera cada lisado a un tubo de reactivo y tubo de control de reactivos Neogen del ensayo de detección molecular 2 - *Salmonella* según se describe a continuación:

Primero transfiera el lisado de cada muestra a los tubos de reactivo y luego al NC. Hidrate el Tubo de Control de Reactivos Neogen **al final**.

5. Use la Herramienta para tapar/destapar de tubos de reactivos del Sistema de Detección Molecular – Neogen® para destapar el Tubo de Reactivo del Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* 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 de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen. Descargue en un ángulo que permita evitar que se muevan las perlas. 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 de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen en la tira.
   5.3 Tape los Tubos de Reactivos del Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen con las tapas adicionales provistas y utilice el lado redondeado de la Herramienta para tapar/destapar de tubos de reactivos del Sistema de Detección Molecular – 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 muestras, 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 de *Salmonella* Neogen.
   5.6 Transfiera **20 µL del lisado NC a un tubo de Control de Reactivos Neogen.** Descargue en un ángulo que permita evitar que se muevan las perlas. Mezcle pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces.
6. Cargue los tubos tapados en la 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 el ensayo configurado en el Software del Sistema de Detección Molecular de 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 ADN amplificado. Esto incluye un Tubo de Reactivo del Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen, el Control de Reactivos Neogen y los Tubos de Control de Matriz Neogen. Siempre deseche los tubos de reactivo cerrados sumergiéndolos en una solución de cloro 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 ensayo.

Las muestras con resultados presuntivos positivos deben ser confirmadas de acuerdo con los procedimientos operativos estándar del laboratorio o mediante la confirmación del método de referencia apropiado[1,2,3], comenzando con la transferencia del caldo de enriquecimiento primario al secundario, seguido del subsiguiente sembrado en placa y la confirmación de aislados, utilizando métodos bioquímicos y serológicos apropiados.

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

En el raro caso de que haya una interrupción inusual del suministro eléctrico, el algoritmo lo señalará 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 regulaciones locales.

Tabla 5. Símbolos e información para varios resultados de software.

Tipo de Pocillo	Símbolo del resultado del pocillo	Resultado	Interpretación
Muestra	+	Positivo	Se presume que la muestra es positiva para el patógeno objetivo.
Muestra	−	Negativo	La muestra es negativa para el patógeno objetivo.
Muestra	⊘	Inhibido	La matriz de muestra fue inhibitoria al ensayo. Puede que se requiera un nuevo estudio.
Muestra	?	Inspeccionar	Es indeterminada la presencia o ausencia del patógeno estudiado. Puede que se requiera un nuevo análisis.
Muestra	⊘	Error	No se detectó bioluminiscencia. Puede que se requiera un nuevo análisis.

*Revisar el reporte del ensayo para detalles adicionales en los resultados. Si se reequiere, contacte a tu representante local Neogen para asistencia en la resolución de problemas

Confirmación de los resultados según el Método Certificado de NF VALIDATION

En el contexto de NF VALIDATION, todas las muestras identificadas como positivas por el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen deben ser confirmadas mediante una de las siguientes pruebas:

Opción 1: uso de la norma ISO 6579[3] a partir del enriquecimiento de agua peptonada tamponada[3].

Opción 2: mediante la implementación de un método de confirmación compuesto por lo siguiente: Transfiera 0,1 mL del enriquecimiento BPW ISO[3] o los caldos de enriquecimiento de Tetatrionato (muestras de producción primaria) en 10 mL de caldo RVS. Incubar por 24 ± 3 horas a 41,5 °C. Realice un estriado en agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) [3] o en un agar cromogénico específico para *Salmonella*. Realice una aglutinación de látex con usando la prueba de látex Oxoid *Salmonella* directamente en las colonias aisladas.

Opción 3: Utilizando sondas de ácidos nucleicos como se describe en el estándar EN ISO 7218:2024[5], realizado en colonias aisladas, a partir de XLD o agar cromogénico (ver Opciones 1 o 2). Esta prueba no debe realizarse mediante el uso de Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen.

Opción 4: Mediante el uso de cualquier otro método certificado NF VALIDATION, cuyo principio es diferente al Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen. Se debe utilizar el protocolo completo descrito para este segundo método validado. Todos los pasos previos al comienzo de la confirmación deben ser comunes para ambos métodos.

En caso de resultados discordantes (presuntamente positivos con el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Salmonella* Neogen no confirmados por alguno de los medios descritos anteriormente y, en particular, la prueba de aglutinación de látex), el laboratorio debe seguir los pasos necesarios para garantizar la validez de los resultados obtenidos.

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.

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

1. Para almacenar un lisado tratado termicamente, tape de nuevo el tubo de lisis con una tapa limpia (consulte **Lisis**, sección 4.5).
2. Almacene entre 4 °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 Insertable de Calentamiento de Detección Molecular Neogen y caliéntelos a 100 °C ± 1 °C durante 5 ± 1 minutos.
6. Retire la gradilla de tubos Solución de Lisis Neogen del bloque de calentamiento y deje que se enfríe en Bloque Insertable de Enfriamiento 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. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.10. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and siluriformes (fish) products and carcass and environmental sponges. Effective Date: 2 January 2019.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
7. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
8. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
9. 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.
10. ISO 18593:2018. Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling.
11. US Food and Drug Administration – *Bacteriological Analytical Manual*, Medium M111: Nonfat Dry Milk (Reconstituted). January 2011.
12. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain - part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
13. ISO 6887 (all parts). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
14. Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimmings and Bench Trim | Food Safety and Inspection Service https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-notice/05-23
15. USDA/FSIS Letter of No Objection (NOL) for the MicroTally® Mitt food surface sampler. https://microtally.com/wp-content/uploads/2025/01/Poultry-Mitt-NOL.pdf

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 2026. All rights reserved.
Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
All other trademarks are the property of their respective companies.

© 2026, Neogen. Tous droits réservés.
Neogen est une marque de commerce de Neogen.
Toutes les autres marques de
commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.
FS00869B

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

NEOGEN®

Instruções do produto

Neogen® Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2

Descrição e uso recomendado do produto

O Neogen® Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 é usado com o Neogen® Sistema de Detecção Molecular para a detecção rápida e específica de *Salmonella* em alimentos enriquecidos e amostras ambientais de processos de rações e alimentos.

Os Neogen® Ensaios para Detecção Molecular utilizam 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 aparentes resultados positivos devem ser confirmados por meio do seu método preferido ou conforme especificado pelos regulamentos locais[1, 2, 3].

O Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 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 para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 não foi avaliado com todos os possíveis produtos, processos alimentícios e protocolos de teste 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 o meio de enriquecimento no ambiente do usuário, usando um número suficiente de amostras com alimentos específicos e desafios microbianos para garantir que o método atenda aos critérios do usuário.

A Neogen avaliou o Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* com água peptonada tamponada (BPW) (ISO) como caldo de enriquecimento.

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 para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 contém 96 testes, descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Componentes do kit Neogen Ensaio para 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	Armazenada na rack e pronta para uso
Tubos reagentes para Neogen® Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2	Tubos verdes	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mistura de detecção e amplificação específica liofilizada	Pronto para uso
Tampas adicionais	Tampas verdes	96 (12 tiras de 8 tampas)		Pronto para uso
Neogen® Controle de Reagentes (RC)	Tubos transparentes com tampa articulada	16 (2 sacos de 8 tubos individuais)	Mistura liofilizada de DNA de controle, para amplificação e detecção	Pronto para uso

O Controle Negativo (NC), não fornecido no kit, é um meio de enriquecimento estéril, por exemplo, BPW ISO. Não use água como um NC.

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 para Detecção Molecular de *Salmonella* 2. Guarde as instruções sobre segurança para consulta posterior.

⚠ **ADVERTENCIA:** indica uma situação de perigo que, se não evitada, pode resultar em morte ou lesões graves e/ou danos materiais.

AVISO: indica uma situação potencialmente perigosa que, se não evitada, pode resultar em danos materiais.

⚠ ADVERTÊNCIA

Não use o Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 no diagnóstico de problemas de saúde em humanos ou animais.

O usuário deve treinar seu pessoal nas técnicas de teste adequadas e atuais: por exemplo, Boas Práticas de Laboratório[4], ISO 7218:2024[5] ou CDC Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories (BMBL)[6].

Para reduzir os riscos associados a um resultado falso-negativo que leve à liberação do produto contaminado:

- Siga o protocolo e realize os testes exatamente conforme especificado nas instruções do produto.
- Armazene o Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 conforme indicado na embalagem e nas instruções do produto.
- Sempre use o Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 antes do vencimento.
- Use o Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 com alimentos e amostras ambientais de processos de rações e alimentos que tenham sido aprovados internamente ou por um terceiro.
- Utilize o Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 somente com superfícies, desinfetantes, protocolos e linhagens de bactérias que tenham sido aprovados internamente ou por um terceiro.
- Para uma amostra ambiental que contém um tampão neutralizador 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 para manuseio de amostras Neogen® que incluem o tampão neutralizante com complexo de aril sulfonato: 700002040 | RS96010NB, 700002011 | RS9604NB 700002003 | SSL10NB, 700002004 | SSL10NB2G, 700002213 | HS10NB e 700002002 | HS10NB2G.

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 as regulamentações locais/regionais e nacionais atuais.
- 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 associados à contaminação ambiental:

- Siga as regulamentações locais, regionais e nacionais quanto aos requisitos de descarte.

Para reduzir os riscos associados à exposição a 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 de inserção 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 grau 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 reagentes pós-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 à autoclave após a amplificação.

Consulte a Ficha 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 local 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 a adequação para o propósito do método durante a implementação, a Neogen desenvolveu o kit Neogen Molecular Detection Matrix Control (também chamado de controle de amplificação na ISO 24914:2026[7]). Use o Matrix Control para avaliar a interferência da matriz com os resultados do Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* durante a validação e verificação. Siga a norma ISO 16140-3:2021[8] e/ou o programa de garantia de qualidade da sua organização para determinar o número representativo de amostras necessárias ao verificar o desempenho do método e definir o escopo de sua aplicação em seu laboratório. O uso rotineiro do Neogen Molecular Detection Matrix Control não é necessário uma vez que o método tenha sido verificado e o escopo de aplicação do laboratório seja estabelecido. Siga o programa de garantia de qualidade da sua organização para determinar, caso a caso, a necessidade do Neogen Molecular Detection Matrix Control e sua frequência de uso durante testes rotineiros.

As diferenças entre matrizes podem ser tão simples como os efeitos causados por diferenças no seu processamento ou apresentação, por exemplo, cru versus pasteurizado; fresco versus seco etc.

Limitação de garantias/recurso limitado

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 o representante da Neogen ou distribuidor autorizado da Neogen para quaisquer dúvidas adicionais.

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.

Para os termos e condições completos da Neogen, acesse: https://www.neogen.com/en/terms-and-conditions/

Armazenamento e descarte

Armazene o Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 a 2–8 °C. Não congele. Mantenha o kit fora do alcance da luz durante o armazenamento. Após abrir o kit, verifique se a embalagem protetora 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 resseladas a 2–8 °C por, no máximo, 60 dias.

Não utilize o Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 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 para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 podem conter materiais patogênicos. Quando os testes estiverem concluídos, siga as regulamentações locais, regionais e nacionais para o descarte de resíduos contaminados. Consulte a Ficha 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.

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

O usuário deve concluir o treinamento de qualificação do operador 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"[9].

Consulte a seção "Instruções Específicas para Métodos Comprovados" para obter os requisitos específicos:

Tabela 3 para protocolos de enriquecimento de acordo com o Certificado **Nº 091501** de AOAC® *Official Method of Analysis℠* **2016.01** e AOAC® *Performance Tested℠*.

Tabela 4 para protocolos de enriquecimento conforme o certificado NF VALIDATION **3M 01/16 -11/16**.

Enriquecimento de amostra

As Tabelas 2, 3 e 4 apresentam orientações para protocolos gerais de enriquecimento para amostras de alimentos, rações e ambientais.

É responsabilidade do usuário validar os protocolos de amostragem alternativos ou diluições alternativas para garantir que este método de teste atenda aos critérios do usuário.

Alimentos

1. Deixe que o meio de enriquecimento BPW ISO equilibre a temperatura ambiente do laboratório ou 41,5 ± 1 °C dependendo das matrizes testadas. Consulte as Tabelas 2, 3 ou 4.
2. Combine, de forma asséptica, o meio de enriquecimento e a amostra.
3. Homogeneíze totalmente por mistura, esmagamento ou mistura manual por 2 ± 0,2 minutos ou até que todos os grumos estejam completamente dissolvidos e a suspensão de enriquecimento esteja homogênea[13].
   a. Para carnes e amostras altamente particuladas, recomenda-se o uso de sacos de amostra com filtro.
   b. Para matrizes que incham na água ou que são muito viscosas (por exemplo, cereais e amidos), recomenda-se fazer mais diluições (> 1:10) até viscosidade diminuir consideravelmente ou adicionar 1% alfa-amilase estéril (w/v) à BPW (ISO)[13].
   c. Para amostras grandes de leite em pó e cereais, adicione aos poucos a amostra ao líquido enquanto os mistura para não empelotar.
4. Realize a incubação conforme a descrição na tabela do protocolo padrão (consulte 2, 3 ou 4).

Amostras ambientais

Os dispositivos de coleta de amostra podem ser uma esponja hidratada com uma solução neutralizante para desativar os efeitos dos desinfetantes. A Neogen recomenda o uso de uma esponja de celulose livre de biocidas. A solução neutralizante pode ser caldo neutralizante Dey-Engley (D/E) ou Caldo Letheen. Recomenda-se desinfetar a área após a amostragem.

ADVERTÊNCIA: 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 neutralizante para os tubos de Neogen Solução de Lise.

O tamanho recomendado da área de amostragem para confirmar a presença ou ausência do patógeno na superfície é de, no mínimo, 100 cm^2 (10 cm x 10 cm ou 4" x 4"). Caso a amostragem seja realizada com uma esponja, toda a área deve ser coberta em duas direções (esquerda e direita, depois para cima e para baixo) ou as amostras ambientais devem ser coletadas em conformidade com o protocolo de amostragem vigente ou de acordo com as diretrizes BAM[1], USDA FSIS MLG[2] ou ISO 18593:2018[10] da FDA.

É responsabilidade do usuário validar os protocolos de amostragem alternativos ou diluições alternativas para garantir que este método de teste atenda aos critérios do usuário.

1. Preaqueça o meio de enriquecimento BPW ISO a 41,5 ± 1 °C dependendo das matrizes testadas. Consulte as Tabelas 2, 3 ou 4.
2. Combine assepticamente o meio de enriquecimento e a amostra de acordo com as Tabelas 2, 3 ou 4. Para todas as amostras de carne e altamente particuladas, recomenda-se o uso de sacos filtrantes.
3. Homogeneíze completamente por meio de liquidificador, homogeneizador estomacal ou mistura manual por 2 ± 0,2 minutos. Incubar conforme descrito na tabela de protocolos apropriada. Consulte Tabela 2, 3 ou 4.

Dispositivo de amostragem

1. Para tecido, siga as orientações do FSIS descritas no *Método de Coleta de Amostras de Tecido para Substituir a Amostragem por Excisão N60 para Corte de Fabricação de Carne Bovina e Corte de Bancada*[14], fazendo amostras da matriz com o tecido por 90 s, 45 s de cada lado.

2. Para a luva - siga as orientações conforme descritas na Carta de Não Objeção do Serviço de Pesquisa Agrícola USDA[15], pré-umedecendo a luva com 25 mL de nBPW e esfregando a matriz por 15 s de um lado. Vire a luva e esfregue por mais 15 segundos. Dobre a luva ao meio e ao meio novamente e coloque-a no saco da amostra.
3. Permita que o meio de enriquecimento BPW ISO se equilibre a 41,5 ±1 °C.
4. Combine assepticamente o meio de enriquecimento e a amostra, garantindo que o dispositivo de amostragem esteja submerso.
5. Misture manualmente ou triture todas as amostras por pelo menos 30 segundos. Certifique-se de que o dispositivo de amostragem seja empurrado até o fundo do saco, submerso em meio de cultivo e incube conforme descrito na tabela de protocolos apropriada (consulte a Tabela 2 ou 3).

Tabela 2. Protocolos gerais de enriquecimento.

Matriz de Amostra	Tamanho da Amostra	Volume do Caldo de Enriquecimento	Temperatura de Enriquecimento (± 1 °C)	Tempo de Enriquecimento (horas)	Volume da Análise de Amostra (µL)[a]
Protocolo 1 Produtos alimentícios processados (com exceção de ovos em pó e produtos especificados nos outros protocolos)[b]	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18–26	20
Protocolo 2 Alimentos crus e não processados, ovos em pó, ração e amostras ambientais[c]	25 g	225 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	18–26	20
Protocolo 3 Laticínios em pó (incluindo fórmula infantil e fórmula infantil à base de soja)	25 g	225 mL de BPW ISO	37	20–26	20
Protocolo 4 Produtos à base de cacau (chocolate em pó, produtos para confeitaria, etc.)	25 g	225 mL de 100 g/L de leite em pó desnatado estéril com 0,002% de corante verde brilhante[d,e,f]	37	24–30	20
Protocolo 5 Outros incluem: especiarias, ervas aromáticas, concentrados, chás e cafés instantâneos, temperos prontos em tabletes	25 g	235 mL 2X BPW ISO com 0,5% K_2SO_3 + 240 mL de 100 g/L de leite em pó desnatado estéril[d,g,h]	37	24–30	10
Protocolo 6 Nozes ou misturas de frutos secos contendo nozes (esse protocolo é apropriado para outros frutos secos, incluindo pecã, amêndoa, pistache, castanha-de-caju, castanha-portuguesa, macadâmia, castanha-do-pará, soja e amendoim)	25 g	225 mL de 100 g/L de leite em pó desnatado estéril[d]	37	18–24	20
Protocolo 7 Propés de arrasto	1 par – 2 botas	225 mL 2X BPW ISO[i]	37	20-26	10
Protocolo 8 Propés de arrasto (com alta concentração de cálcio)	1 par – 2 botas	225 mL 2X BPW ISO (após enriquecimento, transferência de 1 mL para 9 mL BPW ISO ou 100 µL a 9,9 mL BPW ISO)[i,j]	37	20-26	10
Protocolo 9 Dispositivo de amostragem (cortes de carne bovina crua, partes de aves cruas, carcaça de aves cruas, cortes de porco crus)	1 pano ou 1 luva	200 mL BPW ISO (pré-aquecido)	41,5	10-24	20

(a) Volume de amostra transferido para tubos de Solução de Lise. Consulte a etapa 4.7 da seção Lise.

(b) Exemplos de produtos para serem testados com o Protocolo 1: refeições prontas, saladas gourmet, cremes.

(c) Exemplos de produtos para serem testados com o Protocolo 2: carnes cruas, vegetais congelados, todos os tipos de queijo, leite fermentado, salada crua (alface, do tipo batávia).

(d) Leite UHT desnatado pode ser substituído por leite em pó desnatado.

(e) 0,45 mL de 1% de solução de corante verde brilhante por 225 mL de leite desnatado, resultando em uma concentração final de 0,002% (0,02 g/L) de corante verde brilhante.

(f) Para preparar leite em pó desnatado estéril, realize uma suspensão de 100 g de leite em pó desnatado estéril em 1 L de água destilada ou purificada. Gire até dissolver. Coloque em autoclave por 15 minutos a 121 °C. Armazene a 2-30 °C[11].

(g) 5 g de K_2SO_3 por 1.000 mL de BPW ISO, resultando em uma concentração final de 0,5% K_2SO_3.

(h) 240 mL de 100 g/L de leite em pó desnatado estéril deve ser acrescentado em 235 mL 2X de BPW ISO estéril com 0,5% K_2SO_3.

(i) Preparado com dupla concentração.

(j) Quando os propés de arrasto apresentam alta concentração de cálcio, é necessária uma diluição de 1:10 ou 1:100 do meio enriquecido: Transfira 1 mL do meio enriquecido para 9 mL de BPW ISO (diluição 1:10) ou 100 µL para 9,9 mL de BPW ISO (diluição 1:100).

Caso seja utilizada uma etapa de enriquecimento secundária opcional, por exemplo, Rappaport Vassiliadis Medium, é necessário realizar uma diluição de 1:2 (1 parte de amostra de enriquecimento em 1 parte de caldo de enriquecimento estéril) ou simplesmente transfira 10 µL do segundo enriquecimento para os tubos de Neogen Solução de Lise. Caso seja utilizado Caldo Tetrationato (TT), transfira 20 µL do enriquecimento secundário para os tubos de Neogen Solução de Lise e não efetue agitação em vórtice de enriquecimento TT ou aplicação em pipeta do fundo do tubo de enriquecimento para evitar a transferência de qualquer precipitado.

Instruções específicas para métodos comprovados

AOAC® *Official Methods of Analysis℠* 2016.01

Certificado N. 091501 do AOAC® *Performance Tested℠*

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 091501

Nos programas OMA℠ e PTM℠ do Instituto de Pesquisa AOAC, o Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 foi constatado como um método eficiente para a detecção de *Salmonella*. As matrizes testadas no estudo são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Protocolos de enriquecimento de acordo com o Certificado N. 091501 OMA℠ 2016.01 e PTM℠ do AOAC.
O volume de amostra transferido para tubos de Neogen Solução de Lise é de 20 µL.

Matriz de Amostra	Tamanho da Amostra	Volume do Caldo de Enriquecimento	Temperatura de Enriquecimento (± 1 °C)	Tempo de Enriquecimento (horas)
Carne moída crua	25 g	225 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	10–24
	325 g	975 mL de BPW ISO (preaquecido)		
Carne de frango moída crua	25 g	225 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	10–24
	325 g	975 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	14–24
Carne de frango empanada cozida	325 g	2925 mL de BPW ISO	37	18–24
Ração seca para cães	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18–24
	375 g	1500 mL de BPW ISO		
Pimenta-do-reino, camarão inteiro cru, espinafre ensacado cru, queijo americano processado pasteurizado	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18–24

Lavagem de carcaça de frango		30 mL	30 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	18–24
Escovação de carcaça de frango com esponja		1 esponja	50 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	18–24
Leite em pó desnatado instantâneo		25 g	225 mL de BPW ISO	37	20–24
Cacau em pó		25 g	225 mL de BPW ISO	37	24–28
Ovo integral líquido pasteurizado		100 mL	900 mL de BPW ISO	37	18–24
Água usada na irrigação de brotos		375 mL	3375 mL de BPW ISO	37	18–24
Creme de manteiga de amendoim		25 g	225 mL de BPW ISO	37	18–24
		375 g	3375 mL de BPW ISO		
Flor de cannabis seca, flor de cânhamo seca[b]		10 g	90 BPW-ISO	41.5	28-32
Propés de arrasto[a]		1 par – 2 botas	225 mL 2X BPW ISO [c]	37	20-26
Propés de arrasto (com alta concentração de cálcio)[a]		1 par – 2 botas	225 mL 2X BPW ISO após o enriquecimento, transfira 1 mL a 9 mL de BPW ISO ou 100 µL para 9,9 mL de BPW ISO) [c, d]	37	20-26
Dispositivo de amostragem (corte de carne bovina crua, corte de carne de porco crua)		1 pano[e]	200 mL BPW ISO (pré-aquecido)	41,5	10-24
Dispositivo de amostragem (partes de aves cruas, carcaças de aves cruas)		1 luva [e]	200 mL BPW ISO (pré-aquecido)	41,5	10-24
Ambiental	Concreto selado	1 esponja	225 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	18–24
	Aço inoxidável	1 swab	10 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	18–24
	Azulejo de cerâmica selado	1 esponja	50 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	18–24

Matriz de Amostra	Tamanho da Amostra	Volume do Caldo de Enriquecimento	Temperatura de Enriquecimento (± 1 °C)	Tempo de Enriquecimento (horas)	Meio de Enriquecimento Secundário (mL)	Temperatura de Enriquecimento Secundário (± 1 °C)	Tempo de Enriquecimento Secundário (horas)
Camarão cru, com cabeça	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18–24	R-V R10: 0,1 mL em 10 mL[a]	41,5	4–24

(a) Transfira 10 µL da amostra enriquecida para tubos de Solução de Lise. Consulte a etapa 4.7 da seção Lise.

(b) Flor de cannabis seca (>0,3% THC) e flor de cânhamo seca (≤0,3%THC)

(c) Preparado com dupla concentração.

(d) Quando os esfregaços da bota apresentam alta concentração de cálcio, é necessária uma diluição de 1:10 ou 1:100 do meio enriquecido: Transfira 1 mL do meio enriquecido para 9 mL de BPW ISO (diluição 1:10) ou 100 µL para 9,9 mL de BPW ISO (diluição 1:100).

(e) Pré-umedecer com 25 mL de nBPW

NF VALIDATION da AFNOR Certification

3M 01/16 -11/16
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
http://nf-validation.afnor.org/en

Para obter mais informações sobre o término da validade, consulte o certificado NF VALIDATION disponível no site supracitado.

Método de certificação NF VALIDATION em conformidade com ISO 16140-2:2016[12] em comparação com ISO 6579:2017[3].

Escopo da validação: Todos os produtos alimentícios para consumo humano, amostras ambientais de produção (incluindo amostras de produção primárias), ração para animais de estimação e alimentação animal, por meio de testes de comprovação em uma grande variedade de alimentos.

Preparo da amostra: As amostras devem ser preparadas de acordo com EN ISO 6579:2017[3] e EN ISO 6887[13].

Versão do software: Consulte o certificado.

Tabela 4. Protocolos de enriquecimento conforme o método certificado NF VALIDATION 3M 01/16 -11/16.

Protocolo	Tamanho da Amostra	Volume do Caldo de Enriquecimento	Temperatura de Enriquecimento (+1 °C)	Tempo de Enriquecimento (horas)	Volume da Análise de Amostra (µL)[a]
Protocolo 1: • Grande variedade de produtos alimentícios processados (com exceção de ovos em pó, frutas e vegetais processados e produtos especificados nos outros protocolos) • Todos os tipos de peixes e frutos do mar • Ração para animais de estimação e alimentação animal • Produção primária (não fecal)	25 g	225 mL de BPW ISO	37	18–26	20
Protocolo 2: • Grande variedade de alimentos crus e não processados (com exceção de peixes e frutos do mar crus e produtos especificados nos outros protocolos) • Ovos em pó • Todos os tipos de frutas e vegetais, • Amostras ambientais da produção de alimentos	25 g ou 1 wipe ou 1 swab	225 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	18–26	20
Protocolo 3: • Laticínios em pó	25 g	225 mL de BPW ISO	37	20–26	20
Protocolo 4: • Produtos à base de cacau contendo mais de 20% de cacau	25 g	225 mL de leite UHT desnatado + 0,002% de corante verde brilhante	37	24–30	20
Protocolo 5: • Especiarias, ervas aromáticas, concentrados, chás, cafés, preparação culinária	25 g	235 mL de 2 x BPW ISO + K_2SO_3 0,5% + 240 mL de leite UHT desnatado	37	24–30	10

Protocolo 6: • Carnes cruas	25 g	225 mL de BPW ISO (preaquecido)	41,5	10–24	20
Protocolo 7: • Produção primária (fecal)	1 propé de arrasto	100 mL em Caldo tetrationato	37	22–24	20
	25 g	225 mL em Caldo tetrationato			
Protocolo 8: • Fórmula infantil, cereais infantis, laticínios em pó sem probióticos[b]	375 g	3375 mL de BPW ISO (preaquecido)	37	20–26	20
Protocolo 9: • Fórmula infantil, cereais infantis, laticínios em pó com probióticos[b]	375 g	3375 mL de BPW ISO (preaquecido) + vancomicina (10 mg/L)	37	20–26	20

(a) Volume de amostra transferido para tubos de Solução de Lise. Consulte a etapa 4.7 da seção **Lise**.

(b) Para amostras grandes de leite em pó e cereais, adicione aos poucos a amostra ao líquido enquanto os mistura para não empelotar.

NOTAS:

- Amostras mais pesadas que 25 g não foram testadas, exceto no protocolo 8 e 9, no estudo NF VALIDATION.
- Os protocolos curtos de detecção são sensíveis a condições de incubação. É necessário seguir as condições de temperatura indicadas na especificação técnica. O usuário deve se certificar de que o preaquecimento do caldo de enriquecimento alcance a temperatura necessária antes da incubação. O tempo de preparação das amostras, o atraso entre o término da etapa de preaquecimento do caldo de enriquecimento e o início da etapa de incubação da amostra de alimento não devem ultrapassar 45 minutos. É recomendado o uso de uma incubadora ventilada para a incubação.
- **Para realizar a transferência da amostra de enriquecimentos de Caldo Tetrationato (TT) para o Neogen Tubo de Lise, não agite com vórtice o enriquecimento TT nem aspire com pipeta o fundo do tubo de enriquecimento para evitar a transferência de qualquer precipitado. A transferência de precipitado pode gerar resultados inválidos.**
- Os pontos de interrupção de protocolo recomendados ocorrem após o enriquecimento ou a lise da amostra. Os caldos de enriquecimento ou lisados de amostra podem ser armazenados a 2–8 °C por até 72 horas. Após a remoção do caldo de enriquecimento do armazenamento, continue o teste a partir da Etapa 1, na seção **Lise**. Após a remoção do lisado de amostra do armazenamento, continue o teste a partir da Etapa 8, na seção **Lise**.

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.

Duas inserções de bloco de calor/resfriamento de detecção molecular Neogen são necessárias para este procedimento. Ambas as inserções são do mesmo produto (700000145), mas são usadas para funções diferentes.

Para maior clareza dentro do procedimento, a inserção usada na etapa de aquecimento será chamada de Inserção de Bloco de Calor por Detecção Molecular, e a inserção usada para a etapa de resfriamento será chamada de Inserção de Bloco de Resfriamento por Detecção Molecular. Essas designações são usadas apenas para distinguir seus papéis e não indicam produtos separados.

Preparação do Neogen® Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular

Coloque o Neogen® Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular diretamente sobre a bancada do laboratório. Utilize o bloco na 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 a 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.

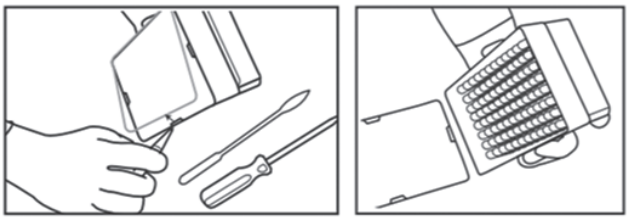
Preparo do Neogen® Equipamento de Detecção Molecular

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 possui 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.

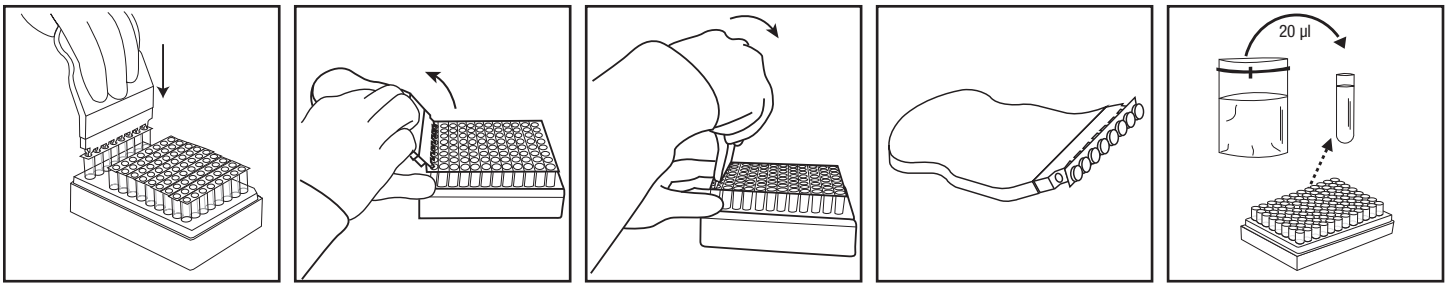
Lise

Remova o fundo do Neogen Rack de Solução de Lise com uma chave de fenda ou espátula antes de inserir no Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular.



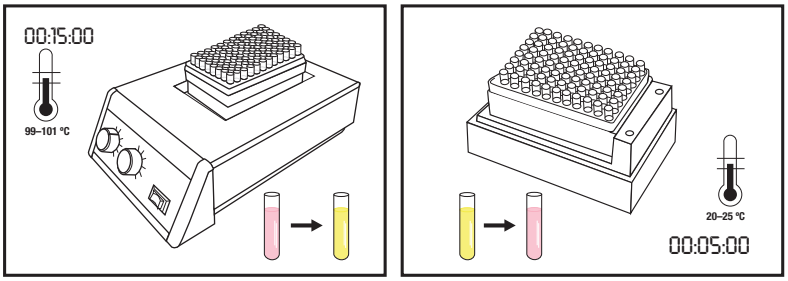
1. Deixe os tubos da Solução de Lise Neogen aquecerem ajustando o rack à temperatura ambiente (20-25 °C) durante a noite (16-18 horas). Alternativas para equilibrar os tubos da Solução de Lise Neogen à temperatura ambiente são colocar os tubos da Solução de Lise Neogen na bancada do laboratório por pelo menos 2 horas, incubar os tubos da Solução de Lise Neogen em uma incubadora a 37 ± 1 °C por 1 hora ou colocá-los em um aquecedor de bloco duplo seco por 30 segundos a 100 ± 1 °C.
2. Inverta os tubos tampados para misturar. Prossiga para a próxima etapa dentro de 4 horas após inverter.
3. Remova a amostra enriquecida da incubadora.
4. É necessário um tubo da Solução de Lise Neogen para cada amostra e a amostra NC (meio de enriquecimento estéril).
   - 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 de Neogen Solução de Lise individuais ou as tiras de 8 tubos necessárias. 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 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 Agite a bolsa de enriquecimento antes de coletar a amostra do lado filtrado ao trabalhar com amostras viscosas.
   - 4.7 Transfira 20 µL de amostra em um tubo Neogen Solução de Lise, exceto se indicado de outro modo na tabela do protocolo (por exemplo, protocolo 5 e enriquecimento secundário em RVS na utilização de amostras secundárias com tampão neutralizador).



5. Repita da etapa 4.4 à 4.7 até que todas as amostras individuais tenham sido adicionadas a um tubo Neogen Solução de Lise correspondente na tira.

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. Etapa de aquecimento: 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. Etapa de resfriamento: Retire a rack descoberta de tubos Neogen Solução de Lise do bloco de aquecimento 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, deve ser colocado diretamente sobre a bancada do laboratório. Durante o resfriamento, a Solução de Lise Neogen voltará a ter uma cor rosa.
10. Retire a rack de tubos Neogen Solução de Lise do Neogen Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular.

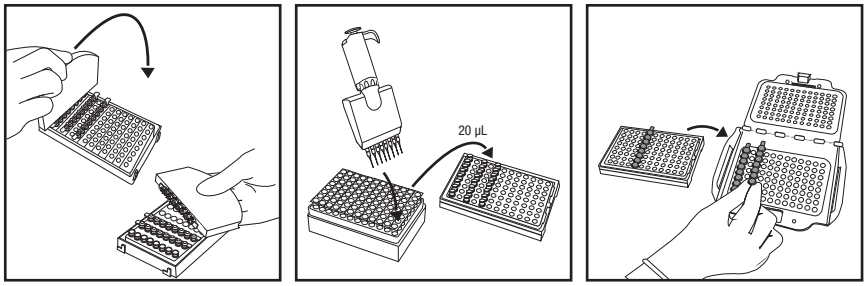


Amplificação

1. É necessário um Tubo de Reagente de Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 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 para Detecção Molecular de *Salmonella* 2.
   1.2 Coloque os tubos de reagente Neogen em um rack vazio.
   1.3 Evite agitar os reagentes precipitados da parte inferior dos tubos.
2. Selecione um tubo Controle de Reagentes e coloque-o na rack.
3. Para evitar contaminação cruzada, destampe uma tira de Tubo de Reagente de cada vez e utilize uma nova ponteira de pipeta para cada etapa da transferência.
4. Transfira cada lisado para um tubo de reagente do Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* e o tubo de controle de reagente Neogen conforme descrito abaixo:

Transfira cada amostra de lisado em tubos de Reagente individuais **primeiro** e, em seguida, o NC. **Por último**, hidrate o tubo Neogen Controle de Reagentes.

5. Use a Neogen® Ferramenta de Tampar/Destampar para Detecção Molecular - Reagente para destampar o Tubo de Reagente para Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 – 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 de Reagente para Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 correspondente. Dispense em um ângulo que evite a agitação dos pellets. Misture pipetando cuidadosamente 5 vezes.**
   5.2 Repita a etapa 5.1 até que a amostra de lisado individual tenha sido adicionada a um Tubo de Reagente para Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 correspondente na tira.
   5.3 Cubra os Tubos de Reagentes para Neogen Ensaio para Molecular de *Salmonella* 2 com a tampa extra 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 de Reagente para Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2.
   5.6 Transfira **20 µL de <u>lisado NC</u> para um tubo Neogen Controle de Reagentes**. Dispense em um ângulo que evite a agitação dos pellets. Misture pipetando cuidadosamente 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. Revise e confirme a execução configurada no Software do Sistema de Detecção Molecular Neogen.
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 Tubo de Reagente para Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2, 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 através da 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.

As aparentes amostras positivas devem ser confirmadas de acordo com os procedimentos operacionais padrão de laboratório ou seguindo o método de confirmação de referência apropriado[1,2,3], começando com a transferência do enriquecimento primário para o(s) caldo(s) de enriquecimento secundário, seguida do plaqueamento subsequente e a confirmação de isolados usando métodos bioquímicos e sorológicos adequados.

NOTA: até mesmo uma amostra negativa não resultará em leitura zero uma vez que o sistema e os reagentes de amplificação do Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 tenham 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.

Tabela 5. Símbolos e informações para vários resultados de software.

Tipo de poço	Símbolo de resultado do poço	Resultado	Interpretação
Amostra		Positivo	A amostra é positiva presuntiva para o patógeno alvo.
Amostra		Negativo	A amostra é negativa presuntiva para o patógeno alvo.
Amostra		Inibido	A matriz da amostra foi inibitória para o ensaio. Pode ser necessário um novo teste.
Amostra		Inspecionar	A presença ou ausência do patógeno alvo foi indeterminada. Pode ser necessário um novo teste.
Amostra		Erro	Não foi detectada bioluminescência. Pode ser necessário um novo teste.

*Consulte o relatório de execução para os detalhes adicionais sobre os resultados. Se necessário, entre em contato com o representante local da Neogen para obter assistência para solução de problemas.

Confirmação de resultados segundo o método certificado NF VALIDATION

No contexto do NF VALIDATION, todas as amostras identificadas como positivas pelo Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2 devem ser confirmadas por um dos testes seguintes:

Opção 1: Uso da norma ISO 6579[3] a partir do enriquecimento de água peptonada tamponada[3].

Opção 2: Implementação de um método de confirmação que consista em: Transfira 0,1 mL do enriquecimento BPW ISO[3] ou enriquecimentos de Caldo Tetrationato (amostras de produção primárias) para 10 mL de caldo RVS. Incube por 24 ± 3 horas a 41,5 °C. Distribua em ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD)[3] ou em ágar cromogênico específico para *Salmonella*. Realize uma aglutinação em látex usando o teste Oxoid *Salmonella* diretamente em colônias isoladas.

Opção 3: Uso de sondas de ácido nucleico conforme descrito na norma EN ISO 7218:2024[5], realizado em colônias isoladas, de ágar XLD ou cromogênico (consulte as Opções 1 ou 2).

Opção 4: Utilização de algum outro método certificado pelo NF VALIDATION, cujo princípio seja diferente do Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2. Deve ser usado o protocolo completo descrito para esse segundo método comprovado. Todas as etapas anteriores ao início da confirmação devem ser comuns a ambos os métodos.

Na ocorrência de resultados divergentes (positivo presuntivo com o Neogen Ensaio para Detecção Molecular de *Salmonella* 2, não confirmados por um dos métodos acima descritos, em particular para o teste de aglutinação em látex), o laboratório deve seguir as etapas necessárias para garantir a validade dos resultados obtidos.

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.

Apêndice A. Interrupção de protocolo: armazenamento e re-teste o teste de lisados tratados termicamente

1. Para armazenar um lisado tratado termicamente, tampe novamente o tubo de lise com uma tampa limpa (consulte a seção **Lise**, 4.5).
2. Armazene entre 4 e 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 bloco de aquecimento 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. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.10. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and siluriformes (fish) products and carcass and environmental sponges. Effective Date: 2 January 2019.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
7. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
8. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
9. 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.
10. ISO 18593:2018. Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling.
11. US Food and Drug Administration – *Bacteriological Analytical Manual*, Medium M111: Nonfat Dry Milk (Reconstituted). January 2011.
12. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain - part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
13. ISO 6887 (all parts). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
14. Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimmings and Bench Trim | Food Safety and Inspection Service https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-notice/05-23
15. USDA/FSIS Letter of No Objection (NOL) for the MicroTally® Mitt food surface sampler. https://microtally.com/wp-content/uploads/2025/01/Poultry-Mitt-NOL.pdf

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 2026. All rights reserved.
Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
All other trademarks are the property of their respective companies.

© 2026, Neogen. Tous droits réservés.
Neogen est une marque de commerce de Neogen.
Toutes les autres marques de
commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.
FS00869B

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

NEOGEN®

Informacje o produkcie

Molekularny test Neogen® do wykrywania 2 – *Salmonella*

Opis i przeznaczenie produktu

Molekularny test Neogen® do wykrywania 2 – *Salmonella* stosuje się razem z Systemem Neogen® do diagnostyki molekularnej w celu szybkiego i swoistego wykrywania bakterii *Salmonella* w próbkach pochodzących z przednamnożonego próbek żywności, paszy 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 wyświetlają się 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, 3].

Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* 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 – *Salmonella* 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 przednamnażającego 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 ocenę metody wykorzystującej podłoże przednamnażające w środowisku użytkownika przy zastosowaniu wystarczającej liczby próbek konkretnej żywności oraz próbek problematycznych pod względem rozwoju drobnoustrojów w celu zapewnienia, że dana metoda spełnia potrzeby użytkownika.

Firma Neogen przeprowadziła ocenę testu Neogen Molecular Detection Assay 2 — *Salmonella*, wykorzystując buforowaną wodę peptonową (BPW) zgodną z normą ISO jako pożywkę wzbogacającą.

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 – *Salmonella* zawiera 96 testów opisanych w tabeli 1.

Tabela 1. Elementy zestawu testów Molekularny test Neogen do wykrywania

Element	Charakterystyka	Liczba sztuk	Zawartość	Komentarze
Roztwór lizujący Neogen® (LS)	Różowy roztwór w przezroczystych probówkach	96 (12 pasków z 8 probówkami)	580 µl LS na probówkę	Ustawione w statywie i gotowe do użycia
Probówki reagentowe Molekularnego testu Neogen® do wykrywania 2 – *Salmonella*	Zielone probówki	96 (12 pasków z 8 probówkami)	Liofilizowana swoista mieszanina do amplifikacji i wykrywania	Gotowe do użycia
Dodatkowe korki	Zielone korki	96 (12 pasków 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), niebędąca częścią zestawu, to jałowe podłoże przednamnażające, np. BPW wg ISO. Nie stosować wody jako NC.

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 – *Salmonella* 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 – *Salmonella* nie należy stosować do diagnozowania stanu zdrowotnego ludzi ani zwierząt.

Przeszkól personel w zakresie aktualnych odpowiednich praktyk dotyczących badań: na przykład Dobrej Praktyki Laboratoryjnej[4], ISO 7218:2024[5], lub wytycznych CDC dotyczących bezpieczeństwa biologicznego w laboratoriach mikrobiologicznych i biomedycznych (BMBL)[6].

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 – *Salmonella* należy przechowywać w sposób podany na opakowaniu i w Informacjach o produkcie.
- Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* należy stosować wyłącznie przed upływem terminu ważności.
- Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* należy stosować w odniesieniu do próbek żywności, paszy i środowiska przetwarzania żywności poddanych walidacji wewnętrznej lub przez osoby trzecie.
- Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* 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 pobierania próbek, w tym bufor neutralizujący z kompleksem arylosulfonianowym: 700002040 | RS96010NB, 700002011 | RS9604NB 700002003 | SSL10NB, 700002004 | SSL10NB2G, 700002213 | HS10NB oraz 700002002 | HS10NB2G.

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 do przednamnażania oraz sprzęt lub powierzchnie, które mogły mieć kontakt z inkubowanym podłożem do przednamnażania, 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 zawartością probówek z podłożem przednamnażającym oraz reagentem po amplifikacji.
- Namnożone próbki należy utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami lokalnymi, regionalnymi i krajowymi.
- 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 ograniczyć ryzyko związane z zanieczyszczeniem środowiska:

- Należy przestrzegać lokalnych, regionalnych i krajowych przepisów dotyczących utylizacji.

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 wkładu 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 przeniesienia każdej próbki używać nowej końcówki pipety.
- Przy przenoszeniu przednamnożonych próbek do probówki lizującej należy przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Aby uniknąć skażenia pipety, 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:

- Nigdy nie otwierać probówek z odczynnikami po zakończeniu 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 w ocenie przydatności metody do zamierzonego celu podczas jej wdrażania, firma Neogen opracowała zestaw Neogen Molecular Detection Matrix Control (zwany również kontrolą amplifikacji zgodnie z normą ISO 24914:2026[7]). Podczas walidacji i weryfikacji należy używać kontroli matrycy w celu oceny wpływu matrycy na wyniki testu molekularnego Neogen 2 — *Salmonella*. Należy postępować zgodnie z normą ISO 16140-3:2021[8] i/lub programem zapewnienia jakości obowiązującym w danej organizacji w celu ustalenia reprezentatywnej liczby próbek wymaganych do weryfikacji skuteczności metody oraz określenia zakresu jej zastosowania w laboratorium. Rutynowe stosowanie kontroli matrycy do testu molekularnego Neogen nie jest wymagane po zweryfikowaniu metody i ustaleniu zakresu jej stosowania w laboratorium. Należy postępować zgodnie z programem zapewnienia jakości obowiązującym w danej organizacji, aby w poszczególnych przypadkach ustalić, czy konieczne jest stosowanie kontroli matrycy do wykrywania molekularnego firmy Neogen oraz określić częstotliwość jej stosowania podczas rutynowych badań.

Matrycę można zdefiniować jako typ produktu o nieodłącznych właściwościach, takich jak skład i proces wytwarzania. Różnice pomiędzy matrycami mogą dotyczyć skutków spowodowanych różnicami w ich sposobach przetwarzania lub postaci dostarczania, np. produkt surowy i pasteryzowany; świeży i suszony itp.

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 Neogen lub autoryzowanym dystrybutorem 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.

Pełny regulamin serwisu Neogen można znaleźć pod adresem: https://www.neogen.com/en/terms-and-conditions/

Przechowywanie i utylizacja

Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. 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 reagentowe należy przechowywać w woreczku wielokrotnego zamknięcia z pochłaniaczem wilgoci wewnątrz, co pozwoli zachować stabilność liofilizowanych reagentów. Ponownie zamknięte woreczki można przechowywać w temperaturze 2–8°C maksymalnie przez 60 dni.

Nie stosować Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* 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 – *Salmonella* mogą zawierać materiały patogenne. Po zakończeniu badań należy postępować zgodnie z lokalnymi, regionalnymi i krajowymi przepisami dotyczącymi utylizacji odpadów zanieczyszczonych. 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 regularnie dezynfekować stoły laboratoryjne i sprzęt (pipety, narzędzia do zamykania i otwierania nakrętek, stojaki na probówki z odczynnikami itp.) za pomocą 1–5-procentowego roztworu (objętościowo) środka wybielającego do użytku gospodarczego lub środka do usuwania DNA.

Użytkownik powinien ukończyć szkolenie kwalifikacyjne dla użytkowników Systemu Neogen do diagnostyki molekularnej, tak jak opisano to w dokumencie „Instrukcje i protokoły dotyczące wymagań instalacji (IQ) / kwalifikacji operacyjnej (OQ) Systemu Neogen do diagnostyki molekularnej”[9].

Szczegółowe wymagania opisano w części „Specjalne instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod”:

Tabela 3 – protokoły przednamnażania według AOAC® *Official Method of Analysis℠* **2016.01** oraz AOAC® *Performance Tested℠*, certyfikat nr **091501**.

Tabela 4 – protokoły przednamnażania zgodnie z certyfikatem NF VALIDATION **3M 01/16 -11/16**.

Przednamnażanie próbki

W tabelach 2, 3 i 4 przedstawiono wytyczne dotyczące ogólnych protokołów namnażania próbek żywności, pasz 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.

Żywność

1. Poczekać na zrównoważenie temperatury podłoża przednamnażającego BPW wg ISO do temperatury otoczenia w laboratorium lub 41,5 ± 1°C w zależności od badanych macierzy. Patrz tabele 2, 3 lub 4.
2. Połączyć w warunkach aseptycznych podłoże przednamnażające i próbkę.
3. Dokładnie zhomogenizować przez zmieszanie, wytrząsanie lub mieszanie ręczne przez 2 ± 0,2 minuty lub do czasu całkowitego rozpuszczenia wszystkich grudek i uzyskania homogenicznej zawiesiny podłoża przednamnażającego[13].
   a. W przypadku wszystkich próbek produktów mięsnych lub innych o wysokiej zawartości cząstek stałych zaleca się stosowanie worków z filtrem.
   b. W przypadku matryc zwiększających swoją objętość pod wpływem wody i wykazujących dużą lepkość (np. płatki śniadaniowe, skrobia), zaleca się zastosować dodatkowe rozcieńczenia (> 1:10) do momentu, aż lepkość wystarczająco spadnie lub dodać sterylny 1% roztwór (wagowo/objętościowo) alfa-amylazy do podłoża BPW (ISO)[13].
   c. W przypadku dużych próbek mleka w proszku i płatków śniadaniowych materiał należy powoli wprowadzać do płynu, często go mieszając, by nie powstawały grudy.
4. Inkubować zgodnie z opisem w odpowiedniej tabeli z protokołem (patrz tabele 2, 3 i 4).

Próbki środowiskowe

Urządzenia do pobierania próbek mogą być gąbki nasączone roztworem neutralizującym w celu unieszkodliwienia skutków działania środków odkażających. Firma Neogen zaleca stosowanie gąbki celulozowej niezawierającej środków biobójczych. Roztworem neutralizującym może być bulion neutralizujący Dey-Engley (D/E) lub bulion z lecytyną. Po pobraniu próbek zaleca się odkażenie powierzchni.

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 przednamnażającego) przednamnożonej próbki środowiskowej, aby zmniejszyć ryzyko związane z wynikiem fałszywie ujemnym prowadzącym do wydania zanieczyszczonego produktu. Inną możliwością jest przeniesienie 10 µl przednamnażającego buforu neutralizującego do probówek z roztworem lizującym Neogen.

Zalecany rozmiar obszaru próbkowania do weryfikacji obecności lub braku patogenu na powierzchni wynosi co najmniej 100 cm^2 (10 cm x 10 cm lub 4” x 4”). W przypadku próbkowania za pomocą gąbki należy pokryć cały obszar w dwóch kierunkach (od strony lewej do prawej, a następnie z góry do dołu) lub pobrać próbki środowiskowe zgodnie z obowiązującym protokołem próbkowania lub według wytycznych FDA BAM[1], USDA FSIS MLG[2] lub ISO 18593:2018[10].

Użytkownik ma obowiązek przeprowadzić walidację alternatywnych protokołów próbkowania lub proporcji roztworów, aby sprawdzić, czy dana metoda badawcza spełnia kryteria określone przez użytkownika.

1. Wstępnie ogrzać podłoże do przednamnażania BPW wg ISO do temperatury 41,5 ± 1°C w zależności od badanych matryc. Patrz tabele 2, 3 lub 4.
2. W warunkach aseptycznych należy połączyć pożywkę wzbogacającą z próbką zgodnie z tabelą 2, 3 lub 4. W przypadku próbek mięsa oraz próbek zawierających dużą ilość cząstek stałych zaleca się stosowanie worków filtracyjnych.
3. Próbkę należy dokładnie zhomogenizować, miksując, mieszając w stomacherze lub ręcznie przez 2 ± 0,2 minuty. Inkubować zgodnie z wytycznymi zawartymi w odpowiedniej tabeli protokołów. Patrz tabela 2, 3 lub 4.

Urządzenie do pobierania próbek

1. W przypadku ściereczki — należy postępować zgodnie z wytycznymi FSIS przedstawionymi w dokumencie *„Metoda pobierania próbek za pomocą ściereczki zastępująca pobieranie próbek metodą wycinania N60 w przypadku okrawków produkcyjnych i okrawków stołowych z wołowiny”*[14], pobierając próbkę z matrycy za pomocą ściereczki przez 90 sekund, po 45 sekund z każdej strony.
2. W przypadku rękawicy — należy postępować zgodnie z wytycznymi zawartymi w piśmie o braku zastrzeżeń wydanym przez Służbę Badań Rolniczych Departamentu Rolnictwa Stanów Zjednoczonych (USDA Agricultural Research Service)(15), zwilżając rękawicę 25 ml roztworu nBPW i pocierając nią powierzchnię przez 15 sekund z jednej strony. Następnie należy odwrócić rękawicę i pocierać przez kolejne 15 sekund. Złożyć rękawicę najpierw na pół, a potem jeszcze raz na pół i włożyć ją do woreczka na próbki.
3. Należy poczekać, aż pożywka wzbogacająca BPW ISO osiągnie temperaturę 41,5 ±1°C.
4. W warunkach aseptycznych należy połączyć pożywkę wzbogacającą z próbką, upewniając się, że urządzenie do pobierania próbek jest zanurzone.
5. Wszystkie próbki należy mieszać ręcznie lub za pomocą stomachera przez co najmniej 30 sekund. Należy upewnić się, że urządzenie do pobierania próbek zostało wsunięte na dno worka i zanurzone w pożywce hodowlanej, a następnie inkubować zgodnie z wytycznymi zawartymi w odpowiedniej tabeli protokołu (patrz tabela 2 lub 3).

Tabela 2. Ogólne protokoły przednamnażania.

Macierz próbki	Wielkość próbki	Objętość bulionu przednamnażającego	Temperatura przednamnażania (± 1°C)	Czas przednamnażania (godz.)	Objętość analizowanej próbki (µl)[a]
Protokół 1 Przetworzone produkty spożywcze (z wyjątkiem proszków jajecznych oraz produktów określonych w innych protokołach)[b]	25 g	225 ml BPW wg ISO	37	18–26	20
Protokół 2 Surowa i nieprzetworzona żywność, proszki jajeczne, pasza dla zwierząt oraz próbki środowiskowe[c]	25 g	225 ml BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	18–26	20
Protokół 3 Sproszkowane produkty mleczne (włącznie z pokarmem dla niemowląt i sojowym pokarmem dla niemowląt)	25 g	225 ml BPW wg ISO	37	20–26	20
Protokół 4 Produkty kakaowe (proszek, czekolady, wyroby cukiernicze itp.)	25 g	225 ml sterylnego odtłuszczonego mleka w proszku 100 g/l z 0,002% zieleni brylantynowej[d,e,f]	37	24–30	20
Protokół 5 Pozostałe produkty, takie jak: przyprawy, zioła aromatyczne, koncentraty, herbaty i kawy rozpuszczalne, kostki rosołowe	25 g	235 ml 2X BPW wg ISO z 0,5% roztworem K_2SO_3 + 240 ml sterylnego odtłuszczonego mleka w proszku 100 g/l[d,g,h]	37	24–30	10

Protokół 6 Orzechy włoskie lub mieszanki orzechów zawierające orzechy włoskie (ten protokół jest odpowiedni dla innych orzechów, w tym orzechów pekan, migdałów, pistacji, orzechów nerkowca, kasztanów, orzechów makadamia, orzechów brazylijskich, orzeszków sojowych oraz orzeszków ziemnych)	25 g	225 ml sterylnego odtłuszczonego mleka w proszku 100 g/l[(d)]	37	18–24	20
Protokół 7 Ochraniacze na obuwie do pobierania próbek	1 para ochraniaczy do pobierania próbek (2 sztuki, po jednej na każdy but)	225 ml 2X BPW ISO[(i)]	37	20-26	10
Protokół 8 Ochraniacze na obuwie do pobierania próbek (nasączone roztworem o wysokim stężeniu wapnia)	1 para ochraniaczy do pobierania próbek (2 sztuki, po jednej na każdy but)	225 ml 2X BPW ISO (po namnożeniu przenieść 1 ml do 9 ml BPW ISO lub 100 µl do 9,9 ml BPW ISO)[(i,j)]	37	20-26	10
Protokół 9 Urządzenie do pobierania próbek (surowy odpad wołowy, surowe części drobiowe, surowe tusze drobiowe, surowy odpad wieprzowy)	1 ściereczka lub 1 rękawica	200 ml BPW ISO (podgrzany)	41,5	10-24	20

(a) Objętość próbki przenoszona do probówek z roztworem lizującym. Patrz krok 4.7 w części Liza.

(b) Przykłady produktów badanych za pomocą protokołu 1: posiłki gotowe do spożycia, sałatki, sos angielski.

(c) Przykłady produktów badanych za pomocą protokołu 2: surowe mięso, mrożone warzywa, wszystkie sery, sfermentowane mleko, surowa sałatka (sałata, Batavia).

(d) Odtłuszczone mleko w proszku można zastąpić odtłuszczonym mlekiem UHT.

(e) 0,45 ml 1% wodnego roztworu zieleni brylantynowej na 225 ml odtłuszczonego mleka, co skutkuje uzyskaniem roztworu zieleni brylantynowej o stężeniu końcowym 0,002% (0,02 g/l).

(f) Aby przygotować sterylne odtłuszczone mleko w proszku, należy zawiesić 100 g odwodnionego odtłuszczonego mleka w proszku w 1 l wody destylowanej lub oczyszczonej. Mieszać do momentu rozpuszczenia. Umieścić w autoklawie na 15 minut w temperaturze 121°C. Przechowywać w temperaturze 2–30°C[(11)].

(g) 5 g K_2SO_3 na 1000 ml BPW wg ISO, co skutkuje uzyskaniem roztworu K_2SO_3 o stężeniu końcowym 0,5%.

(h) 240 ml sterylnego odtłuszczonego mleka w proszku 100 g/l należy dodać do 235 ml 2X BPW wg ISO z roztworem 0,5% K_2SO_3.

(i) Przygotowane w podwójnym stężeniu (2x BPW ISO).

(j) W przypadku stosowania ochraniaczy do pobierania próbek nasączonych roztworem o wysokim stężeniu wapnia, wymagane jest wykonanie rozcieńczenia 1:10 lub 1:100 z pożywki wzbogaconej: należy przenieść 1 ml wzbogaconej pożywki do 9 ml BPW ISO (rozcieńczenie 1:10) lub 100 µl do 9,9 ml BPW ISO (rozcieńczenie 1:100).

W przypadku stosowania opcjonalnego etapu przednamnażania dodatkowego, np. z użyciem podłoża Rappaport Vassiliadis, należy wykonać rozcieńczenie w stosunku 1:2 (1 część przednamnażanej próbki w 1 części sterylnego bulionu przednamnażającego) lub po prostu przenieść 10 µl podłoża do przednamnażania dodatkowego do probówek z roztworem lizującym Neogen. W przypadku stosowania bulionu tetrationianowego (TT) należy przenieść 20 µl podłoża do przednamnażania dodatkowego do probówek z roztworem lizującym Neogen, przy czym nie wolno wytrząsać podłoża do przednamnażania TT ani pipetować z dna probówki do przednamnażania, aby uniknąć przeniesienia osadów.

Specjalne instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod

AOAC® *Official Methods of Analysis℠* 2016.01

Certyfikat AOAC® *Performance Tested℠* nr #091501

W programach AOAC Research Institute OMA℠ oraz PTM℠ Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* okazał się skuteczną metodą wykrywania bakterii *Salmonella*. W Tabeli 3 przedstawiono macierze przetestowane w ramach tego badania.

Tabela 3. Protokoły przednamnażania zgodnie z metodą AOAC OMA℠ 2016.01 oraz AOAC PTM℠, certyfikat nr 091501. Objętość próbki przenoszona do probówek z roztworem lizującym Neogen wynosi 20 µl.

Macierz próbki	Wielkość próbki	Objętość bulionu przednamnażającego	Temperatura przednamnażania (± 1°C)	Czas przednamnażania (godz.)
Surowa mielona wołowina	25 g	225 ml BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	10–24
	325 g	975 ml BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)		
Surowy mielony kurczak	25 g	225 ml BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	10–24
	325 g	975 ml BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	14–24
Smażony kurczak panierowany	325 g	2925 ml BPW wg ISO	37	18–24
Sucha karma dla psów	25 g	225 ml BPW wg ISO	37	18–24
	375 g	1500 ml BPW wg ISO		
Pieprz czarny, surowa cała krewetka, pakowany surowy szpinak, pasteryzowany przetworzony ser amerykański	25 g	225 ml BPW wg ISO	37	18–24
Płukanka z tusz kurczaka	30 ml	30 ml BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	18–24
Gąbka do wymazów z tusz kurczaka	1 gąbka	50 ml BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	18–24
Błyskawiczne odtłuszczone mleko w proszku	25 g	225 ml BPW wg ISO	37	20–24
Kakao w proszku	25 g	225 ml BPW wg ISO	37	24–28
Pasteryzowane całe jaja w płynie	100 ml	900 ml BPW wg ISO	37	18–24
Woda irygacyjna po kiełkowaniu	375 ml	3375 ml BPW wg ISO	37	18–24
Kremowe masło orzechowe	25 g	225 ml BPW wg ISO	37	18–24
	375 g	3375 ml BPW wg ISO		
Dried cannabis flower, dried hemp flower[b]	10 g	90 BPW-ISO	41.5	28-32
Ochraniacze na obuwie do pobierania próbek[a]	1 para ochraniaczy do pobierania próbek (2 sztuki, po jednej na każdy but)	225 ml 2X BPW ISO[c]	37	20-26

Ochraniacze na obuwie do pobierania próbek (nasączone roztworem o wysokim stężeniu wapnia)[a]		1 para ochraniaczy do pobierania próbek (2 sztuki, po jednej na każdy but)	225 ml 2X BPW ISO; po namnożeniu przenieść 1 ml do 9 ml BPW ISO lub 100 µl do 9,9 ml BPW ISO) [c, d]	37	20-26
Urządzenie do pobierania próbek (surowa wołowina z okrawków, surowa wieprzowina z okrawków)		1 ściereczka[e]	200 ml BPW ISO (podgrzany)	41,5	10-24
Urządzenie do pobierania próbek (surowe części drobiowe, surowe tusze drobiowe)		1 rękawica [e]	200 ml BPW ISO (podgrzany)	41,5	10-24
Środowiskowe	Zabezpieczony beton	1 gąbka	225 ml BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	18–24
	Stal nierdzewna	1 wacik	10 ml BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	18–24
	Zabezpieczona płytka ceramiczna	1 gąbka	50 ml BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	18–24

Macierz próbki	Wielkość próbki	Objętość bulionu przednamnażającego	Temperatura przednamnażania (± 1°C)	Czas przednamnażania (godz.)	Podłoże do przednamnażania dodatkowego (ml)	Temperatura przednamnażania dodatkowego (± 1°C)	Czas przednamnażania dodatkowego (godz.)
Surowa krewetka, z głową	25 g	225 ml BPW wg ISO	37	18–24	R-V R10: 0,1 ml w 10 ml[a]	41,5	4–24

(a) Przenieść 10 µl przednamnożonej próbki do probówek z roztworem lizującym. Patrz krok 4.7 w części Liza.

b) Suszone kwiaty konopi indyjskich (>0,3% THC) oraz suszone kwiaty konopi (≤0,3% THC)

(c) Przygotowane w podwójnym stężeniu 2x BPW.

(d) W przypadku stosowania ochraniaczy do pobierania próbek nasączonych roztworem o wysokim stężeniu wapnia, wymagane jest wykonanie rozcieńczenia 1:10 lub 1:100 z pożywki wzbogaconej: należy przenieść 1 ml wzbogaconej pożywki do 9 ml BPW ISO (rozcieńczenie 1:10) lub 100 µl do 9,9 ml BPW ISO (rozcieńczenie 1:100).

(e) Wstępnie zwilżyć 25 ml roztworu nBPW

Certyfikacja NF VALIDATION instytutu AFNOR Certification

3M 01/16 -11/16
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
http://nf-validation.afnor.org/en

Dodatkowe informacje na temat końca ważności można znaleźć w certyfikacie NF VALIDATION dostępnym na wskazanej powyżej stronie internetowej.

Metoda posiadająca certyfikat walidacji NF zgodna z normą ISO 16140-2:2016[12] w porównaniu z normą ISO 6579:2017[3].

Zakres walidacji: Wszystkie produkty żywnościowe przeznaczone dla ludzi, próbki ze środowiska produkcyjnego (włącznie z próbkami z produkcji pierwotnej), karma i pasza dla zwierząt przez wykonanie testów walidacyjnych na szerokiej gamie produktów spożywczych.

Przygotowanie próbek: Próbki należy przygotować zgodnie z normami EN ISO 6579:2017[3] oraz EN ISO 6887[13].

Wersja oprogramowania: Patrz certyfikat.

Tabela 4. Protokoły przednamnażania zgodnie z metodą certyfikowaną według NF VALIDATION 3M 01/16 -11/16.

Protokół	Wielkość próbki	Objętość bulionu przed-namnażającego	Temperatura przednamnażania (+1°C)	Czas przednamna-żania (godz.)	Objętość analizowanej próbki (µl)[a]
Protokół 1: • Szeroka gama przetworzonych produktów spożywczych (z wyłączeniem proszku jajecznego, przetwarzanych warzyw i owoców oraz produktów określonych w innych protokołach) • Wszystkie ryby i surowe owoce morza • Karma i pasza dla zwierząt • Produkcja pierwotna (bez odchodów)	25 g	225 ml BPW wg ISO	37	18–26	20
Protokół 2: • Szeroka gama surowej i nieprzetworzonej żywności (z wyłączeniem surowych ryb i surowych owoców morza, a także produktów określonych w innych protokołach) • Proszki jajeczne • Wszystkie owoce i warzywa • Próbki środowiskowe z produkcji żywności	25 g, 1 szmatka lub 1 wacik	225 ml wstępnie ogrzanego podłoża BPW wg ISO	41,5	18–26	20
Protokół 3: • Sproszkowane produkty mleczne	25 g	225 ml BPW wg ISO	37	20–26	20
Protokół 4: • Produkty kakaowe zawierające ponad 20% kakao	25 g	225 ml w odtłuszczonym mleku UHT + 0,002% zieleni brylantynowej	37	24–30	20
Protokół 5: • Przyprawy, zioła aromatyczne, koncentraty, herbaty, kawy, dodatki kulinarne	25 g	235 ml 2 x BPW ISO + K_2SO_3 0,5% + 240 ml odtłuszczonego mleka UHT	37	24–30	10
Protokół 6: • Mięso surowe	25 g	225 ml wstępnie ogrzanego podłoża BPW wg ISO	41,5	10–24	20
Protokół 7: • Produkcja pierwotna (z odchodami)	1 zestaw okładzin na buty	100 ml w bulionie tetrationianowym	37	22–24	20
	25 g	225 ml bulionu tetrationianowego			
Protokół 8: • Pokarm dla niemowląt, płatki śniadaniowe dla niemowląt, sproszkowane produkty mleczne bez probiotyków[b]	375 g	3375 ml wstępnie ogrzanego podłoża BPW wg ISO	37	20–26	20
Protokół 9: • Pokarm dla niemowląt, płatki śniadaniowe dla niemowląt, sproszkowane produkty mleczne z probiotykami[b]	375 g	3375 ml wstępnie ogrzanego podłoża BPW wg ISO + wankomycyna (10 mg/l)	37	20–26	20

(a) Objętość próbki przenoszona do probówek z roztworem lizującym. Patrz krok 4.7 w części **Liza**.

(b) W przypadku dużych próbek produktów w proszku i płatków śniadaniowych materiał należy powoli wprowadzać do płynu, często go mieszając, by nie powstawały grudy.

UWAGI:

- Próbki o wielkości przekraczającej 25 g nie były badane w badaniu według NF VALIDATION z wyjątkiem protokołu 8 i 9.
- Krótkie protokoły detekcji są wrażliwe na warunki inkubacji. Należy stosować się do warunków temperaturowych określonych w specyfikacji technicznej. Obowiązkiem użytkownika jest skontrolowanie, czy po wstępnym ogrzaniu bulion przednamnażający osiągnie temperaturę wymaganą przed inkubacją. Czas przygotowywania próbek, czyli opóźnienie między końcem etapu wstępnego ogrzewania bulionu przednamnażającego a początkiem etapu inkubacji próbki żywności, nie powinien przekroczyć 45 minut. Podczas inkubacji zaleca się stosowanie wentylowanego inkubatora.
- **Podczas przenoszenia próbki z przednamnażającego bulionu tetrationianowego (TT) do probówek z roztworem lizującym Neogen nie wolno wytrząsać podłoża do przednamnażania TT ani pipetować z dna probówki do przednamnażania, aby uniknąć przeniesienia osadów. Przeniesienie osadu może skutkować uzyskaniem nieprawidłowych wyników.**
- Zalecane momenty przerwania protokołu występują po etapie przednamnażania lub przed lizą próbki. Bulion z przednamnożoną próbką lub próbkę lizatu można przechowywać w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 72 godziny. Po wyjęciu bulionu przednamnażającego z przechowywania należy wznowić testy od kroku 1 części **Liza**. Po wyjęciu próbki lizatu z przechowywania należy wznowić testy od kroku 8 części **Liza**.

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.

Do wykonania tej procedury potrzebne są dwa wkłady do bloku termicznego Neogen służącego do wykrywania molekularnego. Oba wkłady to ten sam produkt (700000145), ale służą do różnych celów.

Dla większej przejrzystości w niniejszej procedurze wkład stosowany w etapie ogrzewania będzie określany jako „wkład bloku grzewczego do wykrywania molekularnego", natomiast wkład stosowany w etapie chłodzenia będzie określany jako „wkład bloku chłodzącego do wykrywania molekularnego". Określenia te służą wyłącznie do rozróżnienia pełnionych przez nie ról i nie oznaczają odrębnych produktów.

Przygotowanie wkład Neogen® bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej

Wkład Neogen® bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej należy umieścić bezpośrednio na blacie laboratoryjnym. Stosować blok w temperaturze otoczenia w laboratorium (20–25°C).

Przygotowanie wkład Neogen® bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej

Wkład Neogen® bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej należy umieścić w suchym podwójnym bloku grzewczym. Włączyć suchy blok grzewczy i ustawić temperaturę pozwalającą żeby wkład Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej osiągnął i utrzymał temperaturę 100 ± 1°C.

UWAGA: W zależności od typu bloku grzewczego wkład 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 wkładu Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej wynosi 100 ± 1°C.

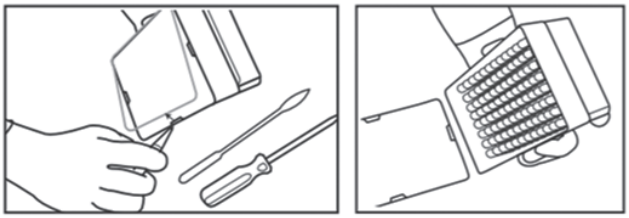
Przygotowanie Urządzenia Neogen® do diagnostyki molekularnej

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.

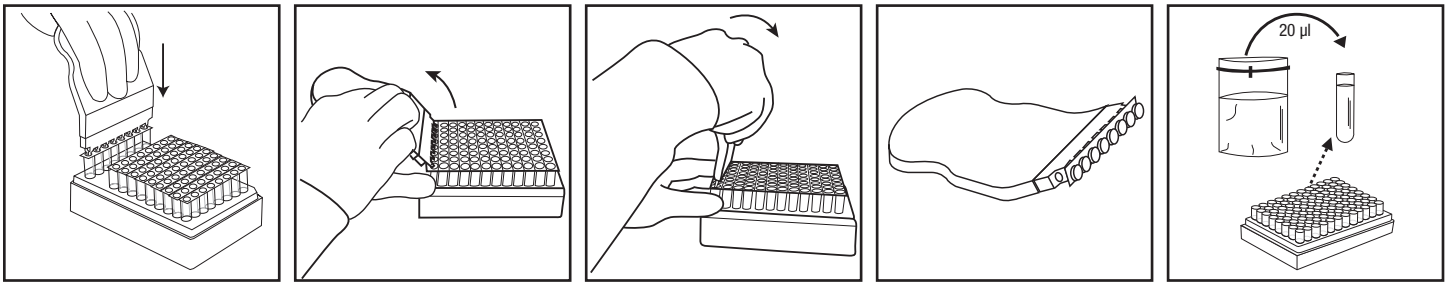
Liza

Za pomocą śrubokrętu lub szpatułki wyjąć dolną część stojaka z probówkami z roztworem lizującym Neogen przed umieszczeniem go we wkładzie Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej.

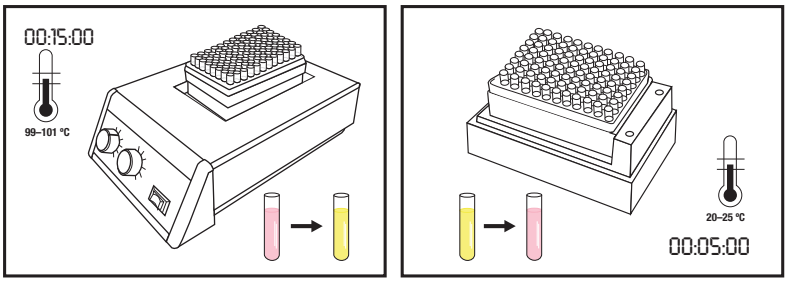


1. Należy pozostawić probówki z roztworem lizującym Neogen na noc (16–18 godzin) w temperaturze otoczenia (20–25°C), aby się ogrzały. Aby doprowadzić probówki z roztworem lizującym Neogen do temperatury otoczenia, można je pozostawić na stole laboratoryjnym na co najmniej 2 godziny, inkubować w inkubatorze w temperaturze 37 ± 1°C przez 1 godzinę lub umieścić w suchym podwójnym podgrzewaczu blokowym na 30 sekund w temperaturze 100 ± 1°C.
2. Odwróć zatkane probówki w celu wymieszania. Przejdź do następnego etapu w ciągu 4 godzin od odwrócenia.
3. Wyjmij namnożoną próbkę z inkubatora.
4. Do każdej próbki oraz do próbki NC (sterylnej pożywki wzbogacającej) potrzebna jest jedna probówka z roztworem lizującym Neogen.
   - 4.1 Paski z probówkami z roztworem lizującym Neogen można dociąć do żądanej liczby probówek z roztworem lizującym Neogen. Zależnie od sytuacji należy dobrać liczbę pojedynczych probówek z roztworem lizującym Neogen lub pasków złożonych z 8 probówek. Umieścić probówki z roztworem lizującym Neogen w pustym stojaku.
   - 4.2 Aby uniknąć zanieczyszczeń krzyżowych, należy otwierać paski 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 pasków z probówkami z roztworem lizującym Neogen (po jednym pasku 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 W przypadku lepkich próbek przed pobraniem próbki od strony przefiltrowanej wymieszać torbę do przednamnażania.
   - 4.7 Przenieść 20 µl próbki do probówki z roztworem lizującym Neogen, jeśli nie określono inaczej w tabeli z protokołami (przykładowy protokół 5 oraz przednamnażanie dodatkowe w RVS lub w przypadku stosowania próbek środowiskowych z buforem neutralizującym).



5. Powtarzać kroki od 4.4 do 4.7 do momentu dodania każdej indywidualnej próbki do odpowiedniej probówki z roztworem lizującym Neogen w pasku.
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 wkładu Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej wynosi 100 ± 1°C.
8. Etap ogrzewania: Umieścić odkryty stojak na probówki z roztworem lizującym Neogen we wkładzie 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. Etap chłodzenia: Wyjąć odkryty stojak z probówkami z roztworem lizującym Neogen z bloku grzewczego i umożliwić schłodzenie we wkładzie Neogen bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej przez co najmniej 5 minut, a maksymalnie 10 minut. Wkład Neogen bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej, stosowany w temperaturze otoczenia, powinien znajdować się bezpośrednio na stole laboratoryjnym. Podczas chłodzenia roztwór lizujący Neogen przybierze różowy kolor.
10. Wyjąć stojak z probówkami z roztworem lizującym Neogen z wkładu Neogen bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej.



Amplifikacja

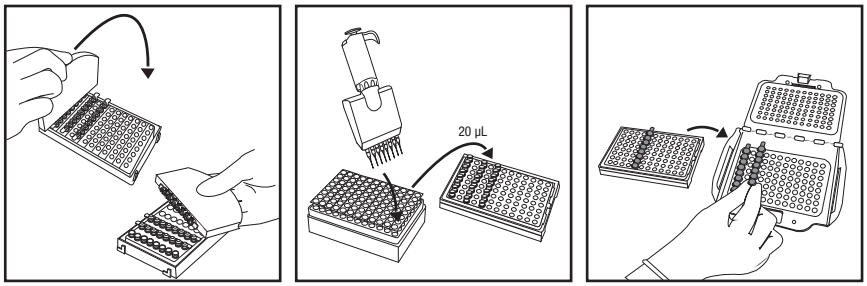
1. Dla każdej próbki oraz NC wymagana jest jedna probówka reagentowa Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella*.
   1.1 Paski z probówkami można dociąć do pożądanej liczby probówek. Dobrać wymaganą liczbę pojedynczych probówek reagentowych Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* lub pasków złożonych z 8 probówek.
   1.2 Umieść probówki z odczynnikami Neogen w pustym stojaku.
   1.3 Nie wolno dopuścić do wstrząśnięcia granulek reagentowych na dnie probówek.
2. Wybrać jedną probówkę Kontroli reagenta i umieścić ją w stojaku.
3. Aby uniknąć zanieczyszczeń krzyżowych, należy otwierać paska z probówkami reagentowymi pojedynczo i na każdym etapie przenoszenia stosować nową końcówkę pipety.
4. Przenieś każdy lizat do probówki z odczynnikiem do wykrywania salmonelli (Neogen Molecular Detection Assay 2) oraz do probówki z odczynnikiem kontrolnym Neogen, zgodnie z poniższym opisem:

Najpierw przenieść poszczególne próbki lizatu do osobnych probówek reagentowych, a następnie przenieść próbkę NC. **Na końcu** nawodnić probówkę Kontroli Neogen reagenta.

5. Do zdejmowania korków probówek reagentowych Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* 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 1/2 płynu (unikać osadu) w probówce z roztworem lizującym Neogen do odpowiedniej probówki reagentowej Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella*. 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 – *Salmonella* znajdujących się w taśmie.
   5.3 Probówki reagentowe Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* 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 – *Salmonella*.

5.6 Przenieść **20 µl <u>lizatu NC</u> do probówki Kontroli Neogen reagenta**. 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. Sprawdź i potwierdź skonfigurowane badanie w oprogramowaniu systemu wykrywania molekularnego Neogen.
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 – *Salmonella*, probówek Kontroli Neogen reagenta, probówek reagentowych oraz probówek Kontroli Neogen matrycy. Zanieczyszczone uszczelnione probówki reagentowe należy utylizować, namaczając je w 1–5% (obj./obj.; wodnym) roztworze domowego wybielacza 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 wyświetlają się w czasie rzeczywistym, natomiast wyniki ujemne wyświetlą się po zakończeniu testu.

Domniemane wyniki dodatnie próbek należy potwierdzić zgodnie ze standardowymi procedurami operacyjnymi laboratorium lub stosując odpowiednią referencyjną metodę potwierdzającą[1,2,3], rozpoczynając od transferu z głównego podłoża przednamnażającego do drugorzędowych bulionów przednamnażających, a następnie izolując i potwierdzając izolaty za pomocą stosownych metod biochemicznych i serologicznych.

UWAGA: Nawet próbka ujemna nie da odczytu zerowego, ponieważ system i odczynniki do amplifikacji Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* charakteryzują się swoistym poziomem tła w RLU.

W rzadkich przypadkach, przy wystąpieniu nietypowego strumienia 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.

Tabela 5. Symbole i informacje dotyczące wyników różnych programów.

Typ studzienki	Symbol wyniku dla studzienki	Wynik	Interpretacja wyników
Próbka		Dodatni	Domniemanie wyniku dodatniego próbki pod kątem docelowego patogenu.
Próbka		Ujemny	Wynik ujemny próbki pod kątem docelowego patogenu.
Próbka		Blokada	Matryca próbki była niedostępna dla testu. Konieczne może być powtórzenie testu.
Próbka		Sprawdzić	Brak możliwości oznaczenia obecności lub braku patogenu docelowego. Konieczne może być powtórzenie testu.
Próbka		Błąd	Nie wykryto bioluminescencji. Konieczne może być powtórzenie testu.

*Dodatkowe informacje na temat wyników można znaleźć w raporcie z badania. W razie potrzeby należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Neogen w celu uzyskania pomocy w rozwiązywaniu problemów.

Potwierdzenie wyników zgodnie z certyfikowaną metodą NF VALIDATION

W kontekście walidacji NF VALIDATION wszystkie próbki określone jako dodatnie w badaniu Molekularnym testem Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella* należy potwierdzić, wykonując jeden z następujących testów:

Opcja 1: Zastosowanie normy ISO 6579[3], począwszy od podłoża przednamnażającego w postaci buforowanej wody peptonowej[3].

Opcja 2: Wdrożenie metody potwierdzającej, która polega na wykonaniu następujących czynności: Przenieść 0,1 ml podłoża przednamnażającego BPW wg ISO[3] lub tetrationianowych bulionów przednamnażających (próbki produkcji pierwotnej) do 10 ml bulionu RVS. Inkubować przez 24 ± 3 godziny w temperaturze 41,5°C. Umieścić na agarze XLD (ksyloza, lizyna, deoksycholan)[3] lub na agarze chromogenicznym specyficznym dla bakterii *Salmonella*. Wykonać aglutynację lateksową za pomocą testu lateksowego Oxoid *Salmonella* bezpośrednio na wyizolowanych koloniach.

Opcja 3: Zastosowanie sond kwasów nukleinowych zgodnie z normą EN ISO 7218:2024[5], przeprowadzone na izolowanych koloniach z podłoża XLD lub agaru chromogenicznego (patrz opcja 1 lub 2). Tego badania nie można wykonywać za pomocą Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella*.

Opcja 4: Zastosowanie innej metody zgodnie z certyfikatem NF VALIDATION, której zasada musi się różnić od Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella*. Należy stosować kompletny protokół opisany dla tej drugiej metody poddanej walidacji. Wszystkie kroki poprzedzające rozpoczęcie potwierdzania muszą być wspólne dla obu metod.

W przypadku niezgodności wyników (domniemany wynik dodatni w badaniu Molekularnym testem Neogen do wykrywania 2 – *Salmonella*, brak potwierdzenia jedną z powyższych metod, a w szczególności w przypadku testu aglutynacji lateksowej) laboratorium musi wykonać czynności niezbędne do zapewnienia ważności uzyskanych wyników.

W przypadku pytań dotyczących konkretnych zastosowań lub procedur należy odwiedzić stronę www.neogen.com lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy Neogen.

Załącznik A. Przerwanie protokołu: Przechowywanie i ponowne badanie lizatów poddanych obróbce cieplnej

1. W celu przechowywania lizatu poddanego obróbce termicznej należy ponownie zamknąć probówkę lizatu czystym korkiem (patrz część **Liza**, punkt 4.5).
2. Przechowywać w temp. od 4 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 Wkładzie 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 i umożliwić schłodzenie we wkładzie 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. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.10. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and siluriformes (fish) products and carcass and environmental sponges. Effective Date: 2 January 2019.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
7. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
8. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
9. 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.
10. ISO 18593:2018. Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling.
11. US Food and Drug Administration – *Bacteriological Analytical Manual*, Medium M111: Nonfat Dry Milk (Reconstituted). January 2011.
12. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain - part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
13. ISO 6887 (all parts). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
14. Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimmings and Bench Trim | Food Safety and Inspection Service https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-notice/05-23
15. USDA/FSIS Letter of No Objection (NOL) for the MicroTally® Mitt food surface sampler. https://microtally.com/wp-content/uploads/2025/01/Poultry-Mitt-NOL.pdf

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 2026. All rights reserved.
Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
All other trademarks are the property of their respective companies.

© 2026, Neogen. Tous droits réservés.
Neogen est une marque de commerce de Neogen.
Toutes les autres marques de
commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.
FS00869B

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

発行日：2026-02

製品情報

Neogen® 分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*

製品の概要および用途

Neogen®分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*は、Neogen®分子検出システムを用いて前培養した食品、飼料および食品・飼料製造工程環境検体中の*サルモネラ*を迅速かつ特異的に検出するために使用します。

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通りに確認する必要があります[1,2,3]。

Neogen分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*は、検査技術の訓練を受けた技術者が検査室環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 - *サルモネラ*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、前増菌培地のメーカーや組成、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、検体の調製、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ことを確認するために、お客様の環境において、特定の食品および微生物負荷生菌保存効力テスト（チャレンジテスト）を用いて十分な数の検体で、前増菌培地を含む検査方法を評価することをお勧めします。

Neogenは、緩衝ペプトン水 (BPW) ISOを前増菌培地としてNeogen分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*を評価しました。

Neogen®分子検出装置は、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破壊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みなされる可能性がありますので、Neogen分子検出装置には入れないでください。

Neogen食品安全性部門は、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 - *サルモネラ*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®ライシス溶液 (LS)	クリアチューブに入ったピンク色の溶液	96検体分（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、調製済み
Neogen®分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*試薬チューブ	緑のチューブ	96検体分（8連チューブ12セット）	凍結乾燥特異的増幅試薬および検出試薬	調製済み
予備キャップ	緑のキャップ	96検体分（8連キャップ12セット）		調製済み
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検体分（チューブ8本入り2パウチ）	凍結乾燥コントロールDNA、増幅試薬および検出試薬	調製済み

陰性コントロール (NC)（キットには付属しません）は、BPW ISOなどの滅菌済前増菌培地です。水は陰性コントロールとして使用しないでください。

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 - *サルモネラ*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 - *サルモネラ*は、ヒトまたは動物の病態診断に使用しないでください。

ユーザーは、最新の適切な試験技術について担当者を訓練する必要があります。例: Good Laboratory Practices[4]、ISO 7218:2024[5]、または CDC の微生物学および生物医学研究室におけるバイオセーフティ (BMBL)[6]。

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 - *サルモネラ*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 - *サルモネラ*は、有効期限までに必ず使用してください。
- Neogen病原菌検出アッセイ2 - *サルモネラ*は、社内または第三者による検証を行った食品、飼料、食品加工環境検体に使用してください。
- Neogen分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*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、中和緩衝前増菌ブロス10 µL Neogenライシスチューブに滴下します。Neogen® サンプルハンドリング製品 (アリルスルホン酸塩錯体の入った中和緩衝液を含む): 700002040 |RS96010NB、700002011 |RS9604NB 700002003 |SSL10NB、700002004 |SSL10NB2G、700002213 |HS10NB、700002002 |HS10NB2G。

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病原菌検査を行ってください。
  培養済み前増菌培地および培養済み前増菌培地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菌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。
- 前増菌後の培地や、増幅後の試薬チューブ内容物には触れないでください。
- 増菌した検体は地方、地域、国の規制に従って廃棄してください。
- アッセイのライシスステップ中に適切な熱処理を行っていない検体は、潜在的バイオハザードと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)。

環境汚染に伴う危険を回避するために:

- 廃棄に関する要件については、地方、地域、および国の規制に従ってください。

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)に従って検体を前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、前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分子生物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。

偽陽性の結果に伴う危険を回避するために:

- 増幅後は試薬チューブを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、お近くのNeogen販売担当者または販売店まで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食品安全性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。

実施時に手法の適合度を評価するために、NeogenはNeogen分子検出マトリックス コントロール キット (ISO 24914:2026[7]では増幅コントロールとも呼ばれる) を開発しました。マトリックス コントロールを用いて、妥当性確認および検証の際に Neogen 分子検出アッセイ2 - サルモネラ の結果に対するマトリックス干渉を評価します。ISO 16140-3:2021[8] 規格および/または御社の品質保証プログラムに従い、方法の性能検証や実験室での適用範囲を定義する際に必要な代表的な検体数を決定してください。方法が検証され、実験室での適用範囲が確定した後は、Neogen分子検出マトリックス コントロールの日常的な使用は不要です。組織の品質保証プログラムに従い、日常的な検査においてNeogen分子検出マトリックス コントロールが必要かどうか、またその使用頻度をケースバイケースで判断してください。

マトリックスは、成分や加工など固有の特性を備える製品の種類と定義できます。マトリックスの違いは、処理や表示方法の違いによって起きる影響と同じくらい単純な場合があります。たとえば、生と低温殺菌の違い、生と乾燥の違いなどがあります。

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食品安全性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 の正規代理店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。

Neogenの利用規約の詳細については、以下をご覧ください:https://www.neogen.com/en/terms-and-conditions/

保管と廃棄

Neogen病原菌検出アッセイ2 - *サルモネラ*は2～8°Cで保管し、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。再密閉したパウチは2～8°Cで60日間保存することができます。

Neogen分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*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 - *サルモネラ*には病原性の物質が含まれている可能性があります。検査が完了したら、汚染廃棄物の処分に関する地方、地域、国の規制に従ってください。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。

実験台と器具 (ピペット、キャップ/デキャップ ツール、試薬チューブラックなど) の汚染を 1～5% (水中 v:v) の家庭用漂白剤またはDNA 除去溶液で定期的に除去してください。

ユーザーは、「Neogen分子検出システムの設置資格 (IQ)／操作資格 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。[9]

具体的な要件については、「バリデート済みの方法」の項を参照してください：

表3. AOAC® *Official Method of Analysis℠* **2016.01**およびAOAC® *Performance Tested℠*認定証**#091501**に従う前増菌プロトコル。

表4. NF VALIDATION 認定証**3M 01/16 -11/16**に従う前増菌プロトコル。

検体の前増菌

表2、3、4は、食品、飼料、環境サンプルの一般的な濃縮プロトコルに関するガイダンスを示しています。

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バリデートしていただき、お客様の責任で使用の可否をご判断ください。

食品

1. BPW ISO増菌培地を、試験対象のマトリックスに応じて検査室周囲温度または41.5 ± 1°Cに平衡させます。表2、3、4をご覧ください。
2. 増菌培地と検体を無菌的に混合します。
3. ブレンダー、混合器またはハンドミキサーで2 ± 0.2分間、またはすべての塊が完全に分解するまで十分にホモジナイズし、前増菌懸濁液を均質にします[13]。
   a. すべての肉検体および微粒子を多く含む検体に関しては、フィルターバッグの使用を推奨します。
   b. 水中で膨張し、高粘度のマトリックス（シリアル、でんぷんなど）は、粘度が適切に低下するまでさらに希釈を行うか（1:10以上）、BPW (ISO)[13]に滅菌蒸留水で溶解した1% (w/v) αアミラーゼを追加します。
   c. 検体量が大きい粉ミルクおよびシリアルに関しては、塊を崩すため良くかき混ぜながら、検体を液体にゆっくり追加します。
4. 適切なプロトコル表の概要に従って培養します（表2、3、4を参照）。

環境検体

殺菌剤の効果を不活性化するために、検体採取装置として、中和溶液を染み込ませたスポンジを使用できます。Neogenは、殺菌剤不使用のセルローススポンジを使用することを推奨します。中和溶液には、Dey-Engley (D/E) 中和ブロスまたはリージンブロスを使用できます。採取後は、作業領域を殺菌することを推奨します。

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緩衝液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危険を回避するために、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、中和緩衝前増菌ブロス10 µL Neogenライシスチューブに滴下します。

表面上の病原体の有無を確認するための検体採取部分の推奨サイズは、100 cm^2（10 cm x 10 cmまたは4” x 4”）です。スポンジで検体採取する場合には、採取部分全体をスポンジを2方向に拭くか（左から右、次に上向きから下向きに）、検査室現行のプロトコルまたはFDA BAM[1]、USDA FSIS MLG[2]またはISO 18593:2018[10]に従って環境検体を採取します。

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バリデートしていただき、お客様の責任で使用の可否をご判断ください。

1. BPW ISO前増菌培地を検査するマトリックスに応じて41.5 ± 1°Cにあらかじめ加熱します。表2、3、4をご覧ください。
2. 増菌培地と検体を表 2、3 または 4 に従って無菌的に混合します。肉および高粒子の検体には、すべてフィルターバッグを使用することをお勧めします。
3. 2±0.2 分間、ブレンド処理、ストマッキング処理、または手で混ぜることにより、完全に均質化します。適切なプロトコル表に記載された方法で培養してください。表2、3、4を参照してください。

サンプリング装置

1. 布材については、*牛肉製造のトリミングおよびベンチトリムにおけるN60切除サンプリングの代替としての布によるサンプリング方法*[14]に記載されたFSISガイダンスに従い、布を用いてマトリックスを片面45秒ずつ、合計90秒間サンプリングしてください。
2. ミットについては、米国農務省農業研究局のノーオブジェクションレター[15]に記載されたガイダンスに従い、ミットを25 mLのnBPWで事前に湿らせ、マトリックスの片面を15秒ほどこすってください。ミットを裏返し、さらに15秒間こすります。ミットを半分に折り返し、サンプルバッグに入れます。
3. BPW ISO増菌培地を41.5 ±1°Cに平衡化させます。
4. 増菌培地と検体を無菌的に混合し、その際、サンプリング装置が完全に液中に浸かるようにします。
5. すべての検体を手またはストマッカーで少なくとも30秒間混ぜます。サンプリング装置をバッグの底に押し込み、培地に完全に浸した状態で、該当するプロトコル表 (表2または表3参照) に従って培養してください。

表2.一般的な前増菌プロトコル。

検体マトリックス	検体量	前増菌ブロス量	増菌温度 (± 1°C)	前増菌時間 (時間)	検体の分析量 (µL)[a]
プロトコル 1 食品製品（エッグパウダーおよび他のプロトコールで規定されている製品を除く）[b]	25 g	225 mL BPW ISO	37	18～26	20
プロトコル 2 生および未処理の食品、エッグパウダー、動物飼料および環境検体[c]	25 g	225 mL BPW ISO （加温済み）	41.5	18～26	20

プロトコル 3 パウダーにした乳製品 (乳児用調製粉乳、大豆ベースの乳児用乳児用調製粉乳を含む)	25 g	225 mL BPW ISO	37	20～26	20
プロトコル 4 ココアベースの製品 (パウダー、チョコレート、菓子類など)	25 g	ブリリアントグリーン色素を0.002%含む滅菌した100 g/Lの無脂肪粉ミルク225 mL[d,e,f]	37	24～30	20
プロトコル 5 その他：スパイス、芳香ハーブ、濃厚飼料、インスタントの茶およびコーヒー、固形ブイヨンなど	25 g	0.5% K_2SO_3を含む2X BPW ISO 235 mL + 滅菌した100 g/Lの粉ミルク240 mL [d,g,h]	37	24～30	10
プロトコル 6 クルミ、またはクルミを含むミックスナッツ (このプロトコルは、ピーカンナッツ、アーモンド、ピスタチオ、カシューナッツ、栗、マカデミアナッツ、ブラジルナッツおよびピーナツなどの他ナッツ類にも有効)	25 g	滅菌した100 g/Lの無脂肪粉ミルク225 mL[d]	37	18～24	20
プロトコル 7 ブーツ ソックス	1組 – ブーツ2足	225 mL 2X BPW ISO[i]	37	20-26	10
プロトコル 8 ブーツ ソックス (カルシウム濃度が高いもの)	1組 – ブーツ2足	225 mL 2X BPW ISO (濃縮後、1 mL を 9 mL BPW ISO、または 100 µL を 9.9mL BPW ISO に移す)(i,j)	37	20-26	10
プロトコル 9 サンプリング装置 (生牛肉のトリム、生鶏肉の部位、生鶏肉の枝肉、生豚肉のトリム)	布 1 枚またはミット 1 枚	200 mL BPW ISO (予備加熱済み)	41.5	10-24	20

(a) ライシス溶液チューブに移す検体量。ライシスセクションのステップ4.7を参照。

(b) プロトコル1で検査する製品の例：調整済みの料理、デリのサラダ、カスタード。

(c) プロトコル2で検査する製品の例：生肉、冷凍野菜、すべてのチース、発酵乳、生サラダ（レタス、バタビアレタス）。

(d) 無脂肪UHT乳は無脂肪粉ミルクの代用となります。

(e) 無脂肪乳225 mLあたり1%水性ブリリアントグリーン色素溶液0.45 mLで、ブリリアントグリーン色素の最終濃度が0.002% (0.02 g/L) となります。

(f) 滅菌無脂肪粉ミルクを調製するには、100 gの無水無脂肪粉ミルク1 gを1 Lの蒸留水または精製水に懸濁させます。溶解するまで渦巻状に撹拌します。121°Cのオートクレーブで15分処理します。2～30°Cで保存します[11]。

(g) 1000 mLのBPW ISOあたり5 gのK_2SO_3で、K_2SO_3で、最終濃度が0.5%となります。

(h) 滅菌した0.5% K_2SO_3を含む滅菌した2X BPW ISO 235 mLに、100 g/Lの無脂肪粉ミルク240 mLを添加する必要があります。

(i) 2倍の濃度で調製。

(j) ブーツ スワブのカルシウム濃度が高い場合、増菌培地から1:10または1:100の希釈が必要です。増菌培地 1 mL を 9 mL BPW ISO に移す (1:10希釈) か、100 µL を 9.9 mL BPW ISO に移します (1:100希釈)。

オプションの二次前増菌ステップを使用する場合には（Rappaport Vassiliadis培地など）、1:2の希釈（前増菌検体1に対し滅菌前増菌ブロス1）を行うか、単に二次増菌検体10 µLをNeogenライシス溶液チューブに移すことが必要となります。テトラチオネート (TT) ブロスを使用する場合には、二次前増菌検体20 µLをNeogenライシス溶液チューブに移しますが、このとき沈殿物をチューブに移さないようにTT前増菌検体をボルテックスにかけたり前増菌検体チューブの底からピペットで吸い上げたりしないでください。

バリデートされた方法に関する具体的な指示

AOAC® *Official Methods of Analysis℠* 2016.01

AOAC® *Performance Tested℠*認定証#091501

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 091501

AOAC Research Institute OMA℠およびPTM℠プログラムにおいて、Neogen分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*は、*サルモネラ*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基質を表3に掲載します。

表3.AOAC OMA℠ 2016.01およびAOAC PTM℠認定証#091501に基づく増菌プロトコル。Neogenライシス溶液チューブに移す検体量は20 µLです。

検体マトリックス		検体量	前増菌ブロス量	増菌温度 (± 1°C)	前増菌時間(時間)
生の牛ひき肉		25 g	225 mL BPW ISO (加温済み)	41.5	10〜24
		325 g	975 mL BPW ISO (加温済み)		
生ひきチキン		25 g	225 mL BPW ISO (加温済み)	41.5	10〜24
		325 g	975 mL BPW ISO (加温済み)	41.5	14〜24
調理済みチキンカツ		325 g	2,925 mL BPW ISO	37	18〜24
ドライドッグフード		25 g	225 mL BPW ISO	37	18〜24
		375 g	1,500 mL BPW ISO		
黒コショウ、生のエビ全体、包装された生のホウレンソウ、低温殺菌した米国産チーズ		25 g	225 mL BPW ISO	37	18〜24
チキン洗浄液		30 mL	30 mL BPW ISO (加温済み)	41.5	18〜24
チキンスポンジ		スポンジ1個	50 mL BPW ISO (加温済み)	41.5	18〜24
インスタント無脂肪粉ミルク		25 g	225 mL BPW ISO	37	20〜24
ココアパウダー		25 g	225 mL BPW ISO	37	24〜28
低温殺菌液状全卵		100 mL	900 mL BPW ISO	37	18〜24
使用済みスプラウト灌漑用水		375 mL	3,375 mL BPW ISO	37	18〜24
クリーム状ピーナツバター		25 g	225 mL BPW ISO	37	18〜24
		375 g	3,375 mL BPW ISO		
乾燥大麻の花、乾燥麻の花[b]		10 g	90 BPW-ISO	41.5	28〜32
ブーツ ソックス[a]		1組 – ブーツ2足	225 mL 2X BPW ISO[c]	37	20-26
ブーツ ソックス (カルシウム濃度が高いもの)[a]		1組 – ブーツ2足	225 mL 2X BPW ISOを濃縮後、1 mL を 9 mL BPW ISO に移すか、100 µL を 9.9 mL BPW ISO に移します) [c, d]	37	20-26
サンプリング装置 (生牛肉のトリム、生豚肉のトリム)		布 1 枚[e]	200 mL BPW ISO (予備加熱済み)	41.5	10-24
サンプリング装置 (生鶏肉の部位、生鶏肉の枝肉)		ミット 1枚 [e]	200 mL BPW ISO (予備加熱済み)	41.5	10-24
環境検体	密封コンクリート	スポンジ1個	225 mL BPW ISO (加温済み)	41.5	18〜24
	ステンレススチール	スワブ1本	10 mL BPW ISO (加温済み)	41.5	18〜24
	密封セラミックタイル	スポンジ1個	50 mL BPW ISO (加温済み)	41.5	18〜24

検体基質	検体量	前増菌ブロス量	増菌温度 (± 1°C)	前増菌時間 (時間)	二次前増菌培地 (mL)	二次前増菌温度 (±1°C)	二次前増菌時間 (時間)
生のエビ、頭付き	25 g	225 mL BPW ISO	37	18～24	R-V R10: 0.1 mLを10 mLへ(a)	41.5	4～24

(a) 10 µLの前増菌検体をライシス溶液チューブに移す。ライシスセクションのステップ4.7を参照。
(b) 乾燥大麻の花 (THCが 0.3% を上回る) と乾燥麻の花 (THC が 0.3% 未満)
(c) 2倍の濃度で調製。
(d) ブーツ スワブのカルシウム濃度が高い場合、増菌培地から1:10または1:100の希釈が必要です。増菌培地 1 mL を 9 mL BPW ISO に移す (1:10希釈) か、100 µL を 9.9 mL BPW ISO に移します (1:100希釈)。
(e) 25 mL の nBPW で事前に湿らせる

AFNOR CertificationによるNF VALIDATION

3M 01/16 -11/16
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
http://nf-validation.afnor.org/en

有効性の終了についての詳細は、上記のウェブサイト上で入手できるNF Validation認証を参照してください。

ISO 6579:2017(3)を参照法とし、ISO 16140-2:2016(12) に従う NF バリデーション認証法。

バリデーションの範囲: ヒト用食物製品、製造環境検体 (一次製造検体を含みます)、ペットフードおよび動物飼料。広範囲の植物のバリデーションアッセイの実施によります。

検体の準備: 検体の準備は、EN ISO 6579:2017(3) および EN ISO 6887(13)に従って行う必要がある。

ソフトウェアバージョン: 認定証を参照してください。

表4. NF VALIDATION 認定法3M 01/16 -11/16に従う前増菌プロトコル。

プロトコル	検体量	前増菌ブロス量	増菌温度 (+1°C)	前増菌時間 (時間)	検体の分析量 (µL)(a)
プロトコル 1: • 広範囲の加工食物製品 (エッグパウダー、加工した果物および野菜、他のプロトコルで規定される製品を除く) • すべての魚および生のシーフード製品 • ペットフードおよび動物飼料 • 一次生産 (非糞便)	25 g	BPW ISO 225 mL	37	18～26	20
プロトコル 2: • 広範囲の生および未加工食品 (鮮魚および生のシーフード、他のプロトコルで規定される製品を除く) • エッグパウダー • すべての果物および野菜 • 食品生産環境検体	25 gまたはワイプ1枚またはスワブ1本	加温済みBPW ISO 225 mL	41.5	18～26	20
プロトコル 3: • パウダーにした乳製品	25 g	BPW ISO 225 mL	37	20～26	20
プロトコル 4: • ココア20%超を含むココアベースの製品	25 g	無脂肪UHT乳 225 mL + ブリリアントグリーン 0.002%	37	24～30	20
プロトコル 5: • スパイス、芳香ハーブ、濃厚飼料、茶、コーヒー、刻んだ食品	25 g	2 x BPW ISO 235 mL + K_2SO_3 0.5% + 無脂肪UHT乳 240 mL	37	24～30	10

プロトコル 6: • 生肉	25 g	加温済みBPW ISO 225 mL	41.5	10～24	20
プロトコル 7: • 一次生産（糞便）	ブーツ拭き取り検体1本	テトラリオネートブロスに100 mL	37	22～24	20
	25 g	テトラリオネートブロスに225 mL			
プロトコル 8: • 乳児用調製粉乳、乳児用シリアル、プロバイオティクス抜きパウダー状乳製品(b)	375 g	加温済みBPW ISO 3375 mL	37	20～26	20
プロトコル 9: • 乳児用調製粉乳、乳児用シリアル、プロバイオティクス入りパウダー状乳製品(b)	375 g	加温済みBPW ISO 3375 mL + バンコマイシン (10 mg/L)	37	20～26	20

(a) ライシス溶液チューブに移す検体量。**ライシス**セクションのステップ4.7を参照。

(b) 検体量が大きい粉ミルクおよびシリアルに関しては、塊を崩すため良くかき混ぜながら、検体を液体にゆっくり追加します。

注記:

- 25 g以上の検体は、プロトコル8および9以外のNF VALIDATION検査で評価されていません。
- 短い検出プロトコルは培養条件の影響を受けやすくなります。技術規格に示されている温度条件に従う必要があります。ユーザーは前増菌ブロスの加温が培養前に必要な温度に達していることを確認しなければなりません。検体調製の時間、前増菌ブロスの加温ステップ終了と食品検体の培養ステップの開始との時間差が45分を超えないようにしてください。培養中は、換気装置つき培養器を使用することを推奨します。
- **テトラチオネート (TT) ブロス前培養検体をNeogenライシスチューブに移す場合には、沈殿物をチューブに移さないようにTT前増菌検体をボルテックスにかけたり前増菌検体チューブの底からピペットで吸い上げたりしないでください。沈殿物を移すと、結果が無効になることがあります。**
- 推奨されるプロトコル中断ポイントは、前増菌後または検体ライシス後です。前増菌ブロスまたは検体ライセートは、2-8°Cで最大72時間保管することができます。前増菌ブロスを保管場所から取り出したら、**ライシス**セクションのステップ1から再開してください。検体ライシスを保管場所から取り出したら、**ライシス**セクションのステップ8から再開してください。

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。

この手順には2つのNeogen分子検出用ヒート/チルブロックインサートが必要です。いずれのインサートも同じ製品 (700000145) ですが、用途は異なります。

手順を明確にするため、加熱工程で使用されるインサートを「分子検出用ヒートブロックインサート」、冷却工程で使用されるインサートを「分子検出用チルブロックインサート」と呼びます。これらの名称は役割を区別するためにのみ使用され、別個の製品を示すものではありません。

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。 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インサート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、温度を維持します。

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ブロックインサートを約30分かけて設定温度に到達させます。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。

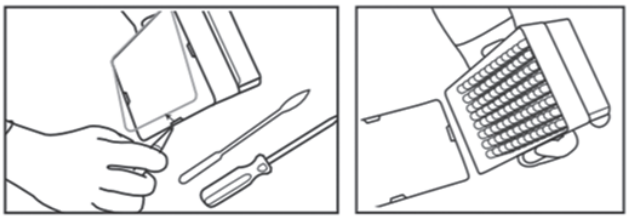
Neogen®分子検出装置の準備

1. Neogen®病原菌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食品安全性部門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または編集します。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。

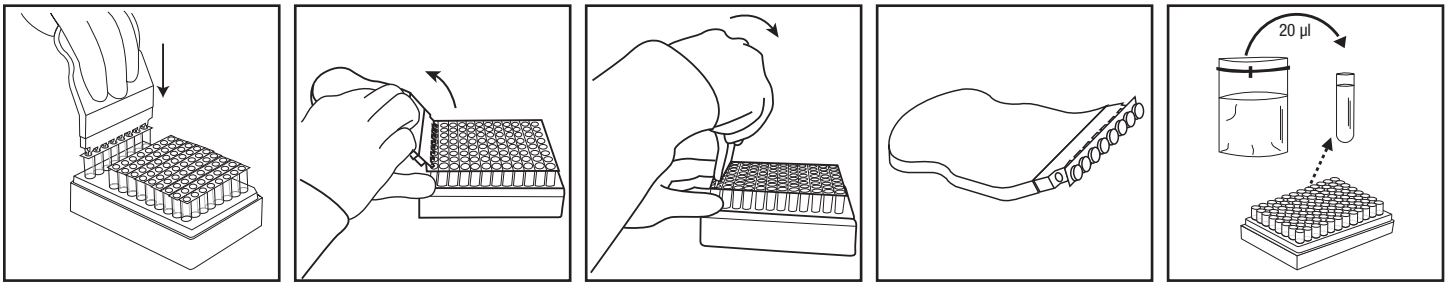
ライシス

Neogen分子検出ヒートブロックインサートに入れる前に、ドライバーまたはスパーテルでNeogenライシスチューブラックの底部を取り外します。



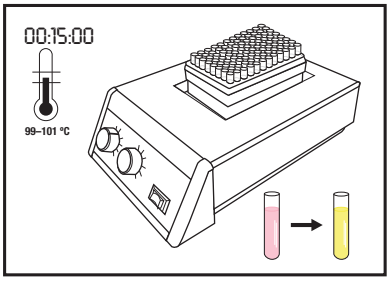
1. ラックを室温 (20～25 °C) で一晩 (16～18 時間) 置いて、Neogen ライシスチューブを温めます。Neogen ライシスチューブを室温と平衡化させるための別の方法として、Neogen ライシスチューブを実験台の上に 2 時間以上置き、Neogen ライシスチューブを 37 ± 1 °C の培養器に 1 時間培養するか、あるいはチューブをドライ ダブル ブロック ヒーターに 100 ± 1 °C で 30 秒間入れます。
2. キャップ付きのチューブを転倒混和します。反転させてから4時間以内に次の工程に進みます。
3. 増菌検体を培養器から取り出します。
4. 検体 1 件およびネガティブ コントロール (NC) 検体 (滅菌増菌培地) 1 件あたり、Neogen ライシスチューブが 1 本必要です。
   - 4.1 Neogenライシスチューブのストリップは、必要なNeogenライシスチューブ数分にカットすることができます。各Neogenライシスチューブまたは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、前増菌した検体をNeogenライシスチューブに滴下します:

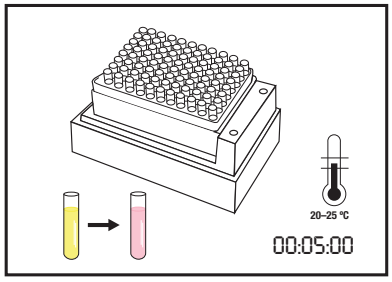
     最初に、増菌した各検体を各Neogenライシスチューブに滴下します。**最後**にNCを滴下します。
   - 4.4 Neogen®分子検出キャップ/デキャップツール ― 溶解、Neogenライシスチューブのキャップを一度に1ストリップずつ外します。
   - 4.5 Neogenライシスチューブのキャップを廃棄します。ライセートを再検査用に保存する場合は、キャップを清潔な容器に入れておき、ライシス後に再度キャップを嵌めます。
     - 4.5.1 保存したライセートの処理については、付録Aを参照してください。
   - 4.6 粘性検体を扱う場合には、ろ過側から採取する前に、前増菌バッグを撹拌します。
   - 4.7 プロトコル表に他の規定がない限り、検体20 µLをNeogenライシス溶液チューブに移します(プロトコル5およびRVS中でのび二次前増菌または環境検体を中和緩衝液とともに使用する場合など)。



5. 各検体が、ストリップの対応するNeogenライシスチューブに添加されるまでステップ4.4～4.7を繰り返します。
6. すべての検体を移注したら、NC(ネガティブ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. 加熱工程: 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みなされる可能性がありますので、Neogen分子検出装置には入れないでください。

9. 冷却工程: 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。室温で使用された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。冷却中、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。



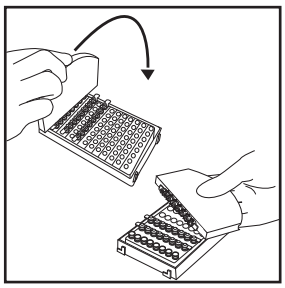


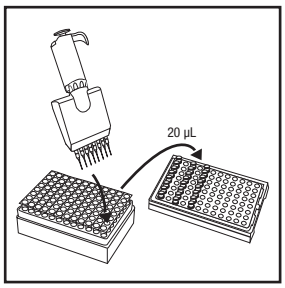
増幅

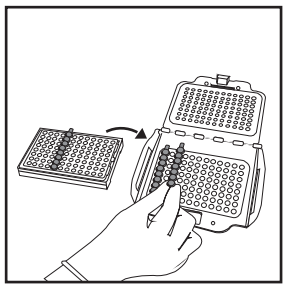
1. 検体およびNCのそれぞれにつきNeogen分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*試薬チューブ1本が必要です。
   1.1 チューブのストリップは、必要な数に合わせてカットできます。各Neogen分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*試薬チューブまたは8連チューブのストリップの数を選択してください。
   1.2 Neogen試薬チューブを空のラックに入れます。
   1.3 チューブの底の試薬ペレットを撹拌しないでください。
2. 試薬コントロールチューブを1本選択して、ラックに置きます。
3. 交差汚染を回避するため、試薬チューブのキャップは一度に1ストリップずつ外し、滴下ステップごとに新しいピペットチップを使用してください。
4. 各ライシス液を Neogen 病原菌検出アッセイ 2 - サルモネラ試薬チューブと Neogen 試薬コントロール チューブを以下のように移し替えます。

> **最初に**各検体ライシス液を個々の試薬チューブに移し、次にNCを移します。**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 - *サルモネラ*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 **検体ライシス液20 µLをNeogenライシスチューブの液体の上部1/2（沈殿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 - *サルモネラ*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回で静かに混合します。**
   5.2 個々の検体ライシス液をストリップ内の対応するNeogen分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*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 - *サルモネラ*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、キャップを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 - *サルモネラ*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ライシス液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回で静かに混合します。
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. 構成済みのランを Neogen 病原菌検出システムのソフトウェアでレビューし確定します。
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、陽性の場合はこれより早く検出されます。
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分子検出装置から取り出し、チューブを水で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 - *サルモネラ*試薬、Neogen試薬コントロール、Neogen基質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[1,2,3]、に従って確認する必要があります。まず、一次Neogen BPW ISO前増菌検体を二次前増菌ブロスに移し、プレート接種したのち、適切な生化学的、血清学的手法を使用して単離菌を確認してください。

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 - *サルモネラ*増幅試薬は「バックグラウンド」相対発光量 (RLU) を有します。

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。0

表5. 各種ソフトウェアの結果に関する記号と情報。

ウェルタイプ	ウェルの結果の記号	結果	判定
検体		陽性	検体の標的病原体について陽性と推定されます。
検体		陰性	検体の標的病原体について陰性と推定されます。
検体		阻害	検体マトリックスがアッセイを阻害しました。再検査が必要な場合があります。詳細については、トラブルシューティングセクションおよびアッセイキット製品情報を参照してください。
検体		検証が必要	標的病原体の有無が確定できませんでした。再検査が必要な場合があります。詳細については、トラブルシューティングセクションおよびアッセイキット製品情報を参照してください。
検体		エラー	生物発光が検出されませんでした。再検査が必要な場合があります。詳細については、トラブルシューティングセクションおよびアッセイキット製品情報を参照してください。

*結果に関する詳細については、実行レポートをご参照ください。必要に応じて、トラブルシューティングのサポートは、お近くのNeogen担当者までお問い合わせください。

NF VALIDATIONにより認証された方法に基づく結果の確認

NF VALIDATIONに照らしてNeogen病原菌検出アッセイ2 - *サルモネラ*により陽性と特定される検体はすべて、以下の検査のうちの一つにより確認する必要があります:

オプション1: 緩衝ペプトン水[3]前増菌から始めて、ISO 6579[3]基準を使用する。

オプション2: 以下で構成される確認方法を実施します: BPW ISO[3]前増菌検体0.1 mLテトラチオネートブロス前増菌検体（一次生産検体）を10 mLのRVSブロスに移します。41.5°Cで24 ± 3時間培養します。*サルモネラ*に特異的なキシロース・リジン・デソキシコール酸 (XLD)[3]カンテン培地または色素生成カンテン培地にストリーキングします。単離したコロニーに対し直接Oxoid *サルモネラ*ラテックス検査によりラッテクス凝集を行います。

選択肢 3: EN ISO 7218:2024[5] 規格に記載されている核酸プローブを用いて、XLDまたは発色寒天培地から分離されたコロニーに実施されます (オプション1または2参照)。この検査はNeogen分子検出アッセイ2 - *サルモネラ*を使用して実施しないでください。

オプション4: Neogen病原菌検出アッセイ2 - *サルモネラ*とは原理が異なる必要があるNF VALIDATIONで認証済みのその他方法を使用します。この第2のバリデート済みの方法について記述されている完全なプロトコルを必ず使用してください。確認開始に先立つステップはすべて、両方の方法に共通している必要があります。

結果が一致しない場合 (Neogen病原菌検出アッセイ2 - *サルモネラ*で陽性と推定されたものの、上記の方法、特にラテックス凝集検査では確認できなかった場合) は、検査室は必要なステップに従って、得られた結果の有効性を確認しなければなりません。

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。

付録A.プロトコルの中断:加熱処理済みライセートの保存と再検査

1. 加熱処理済みライセートを保存するには、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. 4〜8°Cで最大72時間保管します。
3. 保存された検体を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. ヒートブロックからNeogenライシスチューブラックを取外し、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. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.10. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and siluriformes (fish) products and carcass and environmental sponges. Effective Date: 2 January 2019.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
7. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
8. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
9. 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.
10. ISO 18593:2018. Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling.
11. US Food and Drug Administration – *Bacteriological Analytical Manual*, Medium M111: Nonfat Dry Milk (Reconstituted). January 2011.
12. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain - part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
13. ISO 6887 (all parts). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
14. Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimmings and Bench Trim | Food Safety and Inspection Service https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-notice/05-23
15. USDA/FSIS Letter of No Objection (NOL) for the MicroTally® Mitt food surface sampler. https://microtally.com/wp-content/uploads/2025/01/Poultry-Mitt-NOL.pdf

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 2026. All rights reserved.
Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
All other trademarks are the property of their respective companies.

© 2026, Neogen. Tous droits réservés.
Neogen est une marque de commerce de Neogen.
Toutes les autres marques de
commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.
FS00869B

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

发布日期：2026-02

NEOGEN

产品信息

Neogen® 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*

产品说明及预期用途

Neogen® 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*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、饲料和食品加工环境样品中的*沙门氏菌*。

Neogen® 分子检测分析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, 3]。

Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*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 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*。

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 已使用 Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* 配合 Buffered Peptone Water (BPW) ISO 作为增菌培养基进行了评估。

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 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*检测试剂盒包含 96 个检测反应管，如表 1 所述。

表 1. Neogen 沙门氏菌分子检测分析试剂盒构成

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 裂解溶液	已上架，即开即用
Neogen® 沙门氏菌分子检测分析 2 -*沙门氏菌*试剂反应管	绿色管	96（12 排，每排 8 管）	特定扩增和检测试剂的冻干样	即开即用
附加盖	绿色盖子	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 BPW-ISO），未在检测试剂盒中提供。请勿将水用作 NC。

安全

用户应该阅读、理解并遵守 Neogen 分子检测系统和 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*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 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*。

用户必须对其人员就当前正确的测试技术进行培训：例如：《良好实验室规范》[4]、ISO 7218:2024[5] 或 CDC 发布的《微生物与生物医学实验室生物安全指南》(BMBL)[6]。

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 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*。
- 始终在过期日期之前使用 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*。
- 将 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*用于经内部或第三方验证的食品、饲料和食品加工环境样品。
- 仅将 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*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。Neogen® 样本处理产品（包括含芳基磺酸盐络合物的中和缓冲液）：700002040 |RS96010NB，700002011 |RS9604NB 700002003 |SSL10NB，700002004 |SSL10NB2G，700002213 |HS10NB，以及 700002002 |HS10NB2G。

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。
- 请根据地方、地区和国家现行法规，处置富集样本。
- 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）。

为了降低与环境污染相关的风险，请注意以下事项：

- 遵守地方、区域和国家的处置规定。

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：

- 切勿在扩增后将试剂管打开。
- 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。

为帮助客户在方法实施过程中评估其适用性，Neogen 开发了 Neogen 分子检测基质对照试剂盒（在 ISO 24914:2026 中亦称为扩增对照[7]）。在验证和确认过程中，使用该基质对照评估样品基质对 Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella*检测结果的干扰。在方法性能验证及实验室应用范围界定时，应遵循 ISO 16140-3:2021[8] 标准和/或所在机构的质量保证体系，以确定所需的代表性样本数量。方法验证完成且实验室应用范围已确定之后，常规检测中无需持续使用基质对照。遵循贵组织的质量保证计划，逐案确定 Neogen 分子检测基质对照的需求及其在常规测试中的使用频率。

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）。可以将基质之间的差异理解为其在加工或呈现方式方面的差异会带来不同影响，例如，未经处理的基质 vs. 经过巴氏杀菌的基质；新鲜基质 vs. 干基质等。

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。

有关 Neogen 的完整条款和条件，请访问：https://www.neogen.com/en/terms-and-conditions/

储存和弃置

请将 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*储存在 2-8°C 环境下。请勿冷冻。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 温度下，但储存时间不能超过 60 天。

请勿使用过期的 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*。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 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*管可能含有致病物质。检测完成后，应按照当地、区域及国家法规处置受污染废弃物。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%（于水中 v:v）家用漂白溶液或 DNA 去除溶液，定期消毒实验室工作台和设备（移液器、合盖/开盖工具、试剂管架等）。

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 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。[9]

请参见“验证方法具体说明”部分，了解特定要求：

表 3：遵照 AOAC® *Official Method of Analysis℠* **2016.01** 和 AOAC® *Performance Tested℠* 证书 **#091501** 实施的增菌方案。

表 4：遵照 NF Validation 证书 **3M 01/16-11/16** 实施的增菌方案。

样品增菌

表 2、表 3 和表 4 提供了食品、饲料及环境样品的一般富集操作指南。

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。

食品

1. 根据测试的基质，让 BPW ISO 增菌培养基平衡至实验室环境温度或 41.5 ± 1°C。见表 2、3 或 4。
2. 在无菌环境下将增菌培养基和样品进行混合。
3. 通过混合、均质操作或手动混合 2 ± 0.2 分钟或直到所有块状物完全溶解且浓缩悬浮液均匀，实现彻底均质[13]。
   a. 对于所有肉类和微粒样品，建议使用过滤袋。
   b. 对于会在水中膨胀且粘度很高的基质（例如谷类、淀粉），建议进行进一步的稀释 (> 1:10)，直至粘度适当下降，或将无菌的 1% (w/v) α-淀粉酶加入 BPW (ISO)[13]。
   c. 对于大量奶粉和谷类样品，请将样品慢慢加入液体中并多次混合，以避免出现结块。
4. 按照适用方案表所述进行培养（请参见表 2、表 3 或表 4）。

环境样品

样品采集工具可以是用中和溶液水化过（此过程可消除消毒剂的作用）的海绵。Neogen 建议使用不含生物杀菌剂的纤维素海绵。中和溶液可使用 Dey-Engley(D/E) 中和肉汤或李氏肉汤。建议取样后对取样区进行消毒。

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。

用于验证表面是否存在病原体的取样区域的建议尺寸至少为 100 cm^2（10 cm x 10 cm 或 4” x 4”）。当用海绵取样时，向两个方向（从左到右，然后从上到下）覆盖整个区域，或按照您当前的取样方案或根据 FDA BAM[1]、USDA FSIS MLG[2] 或 ISO 18593:2018[10] 指导方针收集环境样品。

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。

1. 根据测试的基质，将 BPW ISO 增菌培养基预热到 41.5 ± 1°C。见表 2、3 或 4。
2. 根据表 2、表 3 或表 4 无菌混合增菌培养基和样本。对于所有肉类和高颗粒样本，建议使用带滤网增菌袋。
3. 通过混匀或拍打 2 ± 0.2 分钟彻底均质化。按相应方案表中的条件进行培养。参见表 2、3 或表 4。

采样装置

1. 布拭子——遵循 FSIS 指南（*《用布样采样法替代牛肉修整 N60 切除采样法》*）[14]，对样品表面擦拭 90 秒（每侧 45 秒）。
2. 手套拭子——按照 USDA 农业研究局无异议函指导，先用 25 mL nBPW 预润湿手套，在样品一侧擦拭 15 秒；翻面后再擦拭 15 秒；将手套对折两次后放入样品袋。
3. 使 BPW ISO 增菌培养基平衡至 41.5 ± 1°C。
4. 无菌条件下将增菌培养基与样品混合，并确保取样装置完全浸没。
5. 所有样品应通过手工混匀或拍击式均质至少 30 秒。确保取样装置被压至样品袋底部并完全浸没于培养基中，然后按照相应方案表中的条件进行培养（见表 2 或表 3）。

表 2. 一般增菌方案。

样品基质	样品大小	增菌肉汤量	增菌温度 (±1°C)	增菌时间 (小时)	样品分析量 (µL)[a]
方案 1 加工食品(不包括蛋粉以及其他方案中规定的产品)[b]	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-26	20
方案 2 生的和未加工的食物、蛋粉、动物饲料以及环境样品[c]	25 g	225 mL BPW ISO (预热)	41.5	18-26	20
方案 3 粉状乳制品(包括婴儿配方奶粉、大豆原料婴儿配方奶粉)	25 g	225 mL BPW ISO	37	20-26	20
方案 4 可可原料产品(粉末、巧克力、糖果等)	25 g	225 mL 无菌 100 g/L 脱脂奶粉, 含 0.002% 亮绿色染料[d,e,f]	37	24-30	20
方案 5 其他,包括:调味料、草本香料植物、浓缩液、速溶茶和咖啡、肉汤块	25 g	235 mL 2X BPW ISO, 含 0.5% K_2SO_3 + 240 mL 无菌 100 g/L 脱脂奶粉[d,g,h]	37	24-30	10
方案 6 核桃或含有核桃的坚果食品(该方案适用于其他坚果,包括山核桃、杏仁、开心果、腰果、栗子、澳洲坚果、巴西坚果、大豆坚果和花生)	25 g	225 mL 无菌 100 g/L 脱脂奶粉[d]	37	18-24	20
方案 7 靴套拭子	1 对(2 只靴子)	225 mL 2× BPW ISO[i]	37	20-26	10
方案 8 靴套拭子(高钙含量样品)	1 对(2 只靴子)	225 mL 2× BPW ISO(增菌后需稀释:1 mL 转入 9 mL BPW ISO 或 100 µL 转入 9.9 mL BPW ISO[i,j]	37	20-26	10
方案 9 取样装置(生牛肉修整料、生禽肉部位、生禽胴体、生猪肉修整料)	1 块布或 1 个手套拭子	200 mL BPW ISO(预热)	41.5	10-24	20

(a) 转移到裂解液管的样品体积。请参阅"裂解"部分的步骤 4.7。

(b) 将使用方案 1 测试的产品示例:即食食品、熟食沙拉、奶油冻。

(c) 将使用方案 2 测试的产品示例:生肉、冷冻蔬菜、所有奶酪、发酵牛奶、生食沙拉(巴达维亚生菜)。

(d) 脱脂超高温灭菌牛奶可以替代脱脂奶粉。

(e) 每 225 mL 脱脂牛奶中加入 0.45 mL 的 1% 亮绿染料水溶液,得到最终浓度为 0.002% (0.02 g/L) 的亮绿染料。

(f) 要制备无菌脱脂奶粉,将 100g 脱水脱脂奶粉悬浮在 1 L 蒸馏水或净化水中。晃动直到溶解。在 121°C 下高压灭菌 15 分钟。在 2-30°C[11] 下储存。

(g) 在每 1000 mL BPW ISO 中加入 5 g 的 K_2SO_3,得到最终浓度为 0.5% 的 K_2SO_3。

(h) 必须将 240 mL 100 g/L 无菌脱脂奶粉添加到含 0.5% K_2SO_3 的 235 mL 2X BPW ISO 无菌溶液中。

(i) 按双倍浓度配制。

(j) 当靴套样品中钙含量较高时,必须进行 1:10 或 1:100 稀释:1 mL 增菌液 + 9 mL BPW ISO(1:10 稀释)或 100 µL 增菌液 + 9.9 mL BPW ISO(1:100 稀释)。

如果使用可选的二次增菌步骤,例如 Rappaport Vassiliadis 培养基,则需要进行 1:2 稀释(将 1 份样品增菌成 1 份无菌增菌肉汤)或直接将 10 µL 二次增菌转移到 Neogen 裂解液管中。如果使用连四硫酸盐 (TT) 肉汤,则将 20 µL 的二次增菌转移到 Neogen 裂解液管中,不要振荡 TT 增菌或从增菌管底部移液,以免转移任何沉淀物。

验证方法具体说明

AOAC® *Official Methods of Analysis℠* 2016.01

AOAC® *Performance Tested℠* 证书 #091501

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 091501

AOAC 研究所 OMA℠ 和 PTM℠ 计划显示，Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*是一种有效的*沙门氏菌*检测方法。研究中检测的基质显示在表 3 中。

表 3.遵照 AOAC OMA℠ 2016.01 和 AOAC PTM℠ 证书 #091501 实施的增菌方案。转移到 Neogen 裂解液管的样品体积为 20 µL。

样品基质		样品大小	增菌肉汤量	增菌温度 (±1°C)	增菌时间（小时）
生的碎牛肉		25 g	225 mL BPW ISO（预热）	41.5	10-24
		325 g	975 mL BPW ISO（预热）		
生的碎鸡肉		25 g	225 mL BPW ISO（预热）	41.5	10-24
		325 g	975 mL BPW ISO（预热）	41.5	14-24
烹制炸鸡排		325 g	2,925 mL BPW ISO	37	18-24
干狗粮		25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24
		375 g	1,500 mL BPW ISO		
黑胡椒、生全虾、生袋装菠菜、巴氏杀菌加工美国干酪		25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24
鸡胴体冲洗		30 mL	30 mL BPW ISO（预热）	41.5	18-24
鸡胴体海绵		1 块海绵	50 mL BPW ISO（预热）	41.5	18-24
速溶脱脂奶粉		25 g	225 mL BPW ISO	37	20-24
可可粉		25 g	225 mL BPW ISO	37	24-28
巴氏杀菌全蛋液		100 mL	900 mL BPW ISO	37	18-24
发芽灌溉水		375 mL	3,375 mL BPW ISO	37	18-24
奶油花生酱		25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24
		375 g	3,375 mL BPW ISO		
干燥的大麻花、干燥的汉麻花[b]		10 g	90 BPW-ISO	41.5	28-32
靴套拭子[a]		1 对（2 只靴子）	225 mL 2X BPW ISO [c]	37	20-26
靴套拭子（高钙含量样品）[a]		1 对（2 只靴子）	225 mL 2X BPW ISO，富集后 1 mL 转入 9 mL BPW ISO 或 100 µL 转入 9.9 mL BPW ISO [c, d]	37	20-26
取样装置（生牛肉、生猪肉）		1 块布[e]	200 mL BPW ISO（预热）	41.5	10-24
取样装置（生禽肉、生胴体）		1 个手套拭子 [e]	200 mL BPW ISO（预热）	41.5	10-24
环境的	密封混凝土	1 块海绵	225 mL BPW ISO（预热）	41.5	18-24
	不锈钢	1 采样棒	10 mL BPW ISO（预热）	41.5	18-24
	密封瓷砖	1 块海绵	50 mL BPW ISO（预热）	41.5	18-24

样品基质	样品大小	增菌肉汤量	增菌温度 (±1°C)	增菌时间 (小时)	二次增菌培养基 (mL)	二次增菌温度 (±1°C)	二次增菌时间 (小时)
带头生虾	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24	R-V R10：0.1 mL 加入 10 mL[a]	41.5	4-24

(a) 将 10 µL 增菌样品转移到裂解液管。请参阅“裂解”部分的步骤 4.7。
(b) 干燥的大麻花 (>0.3% THC) 和干燥的汉麻花 (≤0.3%THC)
(c) 按双倍浓度配制。
(d) 当靴套样品中钙含量较高时，必须对增菌培养基进行 1:10 或 1:100 稀释：1 mL 增菌液 + 9 mL BPW ISO（1:10 稀释）或 100 µL 富集液 + 9.9 mL BPW ISO（1:100 稀释）。
(e) 使用前用 25 mL nBPW 预润湿

AFNOR Certification 认证的 NF Validation

3M 01/16 -11/16
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
http://nf-validation.afnor.org/en

有关有效性截止日期的详细信息，请参阅上述网站中提供的 NF VALIDATION 证书。

经 NF VALIDATION 认证，符合 ISO 16140-2:2016[12]要求，以 ISO 6579:2017[3] 为参照。

验证范围：所有人类食品、生产环境样品（包括初级生产样品）、宠物食品和动物饲料，通过对各种食品执行验证分析。

样品制备：应根据 EN ISO 6579:2017[3] 和 EN ISO 6887[13] 制备样品。

软件版本：参见证书。

表 4.遵照 NF VALIDATION 认证方法 3M 01/16-11/16 实施的增菌方案。

方案	样品大小	增菌肉汤量	增菌温度 (+1°C)	增菌时间 (小时)	样品分析量 (µL)[a]
方案 1： • 各种加工食品（不包括蛋粉、加工水果和蔬菜以及其他方案中规定的产品） • 所有鱼类和生海鲜产品 • 宠物食品和动物饲料 • 初级生产（非粪便）	25 g	225 mL BPW ISO	37	18 - 26	20
方案 2： • 各种生食品和未加工食品（不包括生鱼肉和生海鲜，以及其他方案中规定的产品） • 蛋粉 • 所有水果和蔬菜 • 食品生产环境样品	25 g 或 1 拭子或 1 采样棒	225 mL，预热 BPW ISO	41.5	18 - 26	20
方案 3： • 粉状乳制品	25 g	225 mL BPW ISO	37	20 - 26	20
方案 4： • 可可含量超过 20% 的可可原料产品	25 g	225 mL 超高温灭菌脱脂奶 + 0.002% 亮绿色	37	24 - 30	20
方案 5： • 调味料、草本香料植物、浓缩液、茶、咖啡、烹饪制品	25 g	235 mL 2 x BPW ISO + K_2SO_3 0.5% + 240 mL 超高温灭菌脱脂奶	37	24 - 30	10
方案 6： • 生肉	25 g	225 mL，预热 BPW ISO	41.5	10 - 24	20

方案 7: • 初级生产 (粪便)	1 条长筒袜	100 mL, 在连四硫酸盐肉汤中	37	22 - 24	20
	25 g	225 mL 连四硫酸盐肉汤			
方案 8: • 不含益生菌的婴儿配方奶粉、婴儿谷物、奶粉[b]	375 g	3375 mL 预热 BPW ISO	37	20 - 26	20
方案 9: • 含益生菌的婴儿配方奶粉、婴儿谷物、奶粉[b]	375 g	3375 mL 预热 BPW ISO + 万古霉素 (10 mg/L)	37	20 - 26	20

(a) 转移到裂解液管的样品体积。请参阅**裂解**部分的步骤 4.7。

(b) 对于大量粉末和谷类样品，请将样品慢慢加入液体中并多次混合，以避免出现结块。

注释:

- 多于 25 g 的样品尚未在 NF VALIDATION 研究中进行检测 (方案 8 和 9 除外)。
- 短时检测方案对培养条件敏感。必须遵循技术规范中规定的温度条件。用户必须验证增菌肉汤的预热达到规定温度，然后再开始培养。样品制备时间、增菌肉汤预热步骤结束至食品样品培养步骤开始之间的延迟不得超过 45 分钟。培养期间，建议使用通风良好的培养设备。
- **对于从连四硫酸盐 (TT) 肉汤增菌向 Neogen 裂解液管的转移，不要振荡 TT 增菌或从增菌管底部移液，以免转移任何沉淀物。转移沉淀物可能导致结果无效。**
- 推荐的方案中断点为增菌后或样品裂解后。增菌肉汤或样品裂解液可在 2-8°C 下储存最长 72 小时。从储存处取出增菌肉汤后，应从**裂解**部分的步骤 1 重新开始检测。从储存处取出样品裂解液后，应从**裂解**部分的步骤 8 重新开始检测。

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。

本流程需使用两个 Neogen 加热/冷却模块插块，两个插块是相同的产品 (700000145)，但用途不同：
为了在流程中更清晰起见，用于加热步骤的插块称为分子检测加热模块，用于冷却步骤的插块则称为分子检测冷却模块。这些名称仅为区分功能，并非不同产品。

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。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。

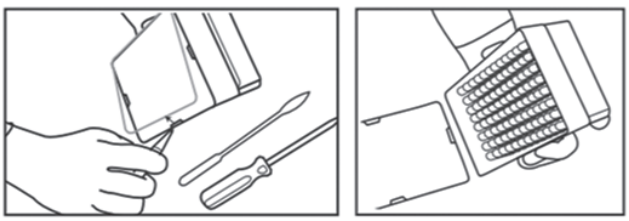
Neogen® 分子检测仪器的准备工作

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

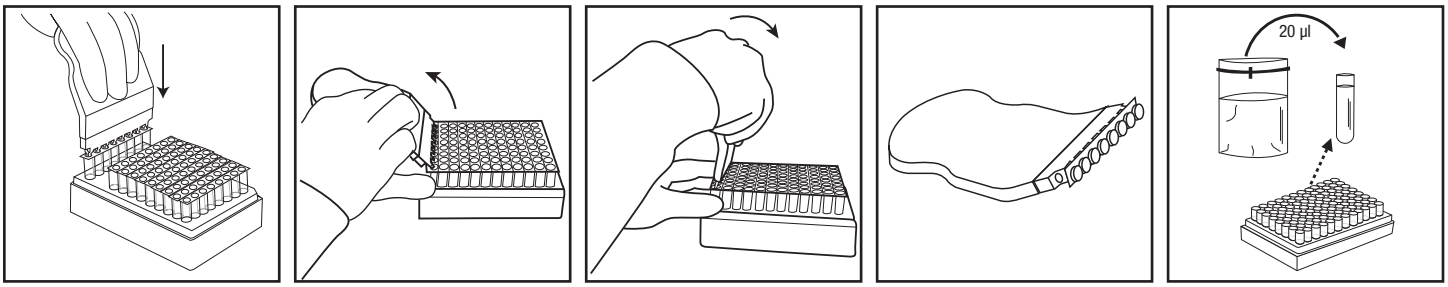
请用螺丝刀或抹刀移除 Neogen 裂解溶液管架的底部，然后再将其置于 Neogen 分子检测加热模块中。



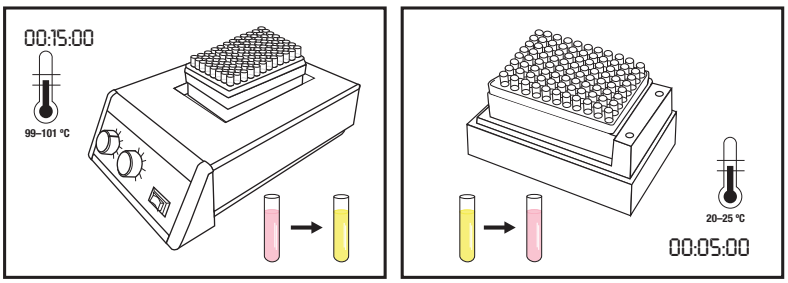
1. 将管架置于室温 (20-25°C) 过夜（16 18 小时），从而让 Neogen 裂解液管预热。要将 Neogen 裂解液管平衡至室温，还有种替代方法，可将 Neogen 裂解液管放置在实验室工作台上至少 2 小时，或在 37 ± 1°C 的培养箱中孵育 1 小时，或置于 100± 1°C 的加热模块 30 秒。
2. 倒置加盖的试管进行混合。倒置后 4 小时内进入下一步。
3. 将增菌样本从培养箱中取出。
4. 每个样品和阴性对照 (NC) 样品（无菌增菌培养基）都需要用到一支 Neogen 裂解液管。
   - 4.1 可以根据所需的 Neogen 裂解溶液管的数量，对 Neogen 裂解溶液联排管进行切割。选择所需数量的单个 Neogen 裂解溶液管或 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 处理粘性样品时，在从过滤侧采集样品之前，先鼓起增菌袋。
   - 4.7 将 20 µL 样品转移到 Neogen 裂解溶液管内，除非方案表中另有说明（示例方案 5 和 RVS 中的二次增菌，或使用含中和缓冲液的环境样品时）。



5. 重复步骤 4.4 至 4.7，直到将所有样品添加到联排管对应的 Neogen 裂解溶液管为止。
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. 加热步骤：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. 冷却步骤：从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使用，则应将其直接置于实验室工作台上。冷却过程中，Neogen 裂解溶液会恢复为粉红色。
10. 从 Neogen 分子检测冷却架上移除 Neogen 裂解溶液管架。



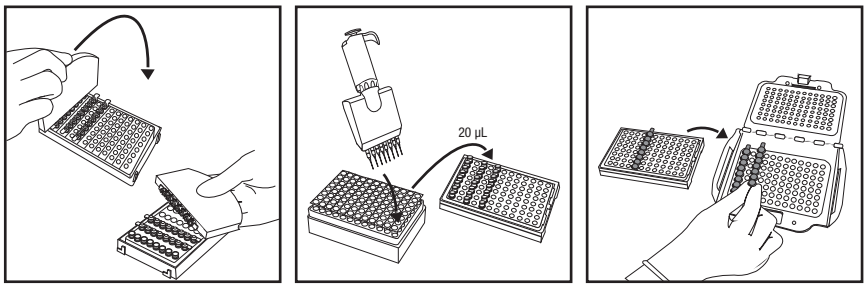
扩增

1. 每个样品和每个 NC 都需要一支 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*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 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*试剂反应管或 8 联排管。
   - 1.2 将 Neogen 试剂管放在空架子上。
   - 1.3 请勿将试剂小球搅离管底。

2. 选择一支试剂对照管并放入管架。
3. 为避免交叉污染，请一次仅打开一排试剂反应管的管盖，并且每次转移溶液时使用新的移液管吸头。
4. 将各裂解物转移到 Neogen Molecular Detection Assay 2 - Salmonella 试剂管和 Neogen 试剂对照管中，如下所述：

   先将每个样品裂解液转移到单个试剂反应管中，然后转移到 NC 中。**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 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*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 1/2 层的 20 µL 样品裂解液（避免沉淀）转移到对应的 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*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 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*试剂反应管为止。
   - 5.3 使用附加盖盖住 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*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 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*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 分子检测系统软件中查看已配置的运行并确认。
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 的试剂反应管。这包括 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*试剂反应管、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[1,2,3]，应首先将初步的增菌培养液转移到二次增菌肉汤，然后进行后续的培养，并利用正确的生化和血清方法对分离菌进行确认。

注释：因为系统和 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*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。

表 5. 各种软件结果的符号和信息。

孔类型	孔结果符号	结果	判读
样品		阳性	样品是目标病原体的假定阳性样品。
样品		阴性	样品是目标病原体的阴性样品。
样品		抑制	样品基质对分析有抑制作用。可能需要重新测试。
样品		检查	不确定目标病原体是否存在。可能需要重新测试。
样品		错误	未检测到生物发光。可能需要重新测试。

*请参考运行报告，详细了解结果。如果需要，请联系您所在地的 Neogen 代表，以帮助您排查问题。

依照 NF VALIDATION 认证方法确认结果

在 NF VALIDATION 背景下，必须通过以下其中一种检测对 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*鉴定的所有阳性样品进行确认：

选项 1：采用 ISO 6579[3] 标准，从缓冲蛋白胨水[3] 增菌液开始。

选项 2：实施包含以下内容的确认方法：将 0.1 mL BPW ISO[3] 增菌液或连四硫酸盐肉汤增菌液（初级生产样品）转移到 10 mL RVS 肉汤中。在 41.5°C 下培养 24 ± 3 小时。在木糖赖氨酸脱氧胆酸盐 (XLD)[3] 琼脂或*沙门氏菌*专用显色琼脂上划线培养。用琼脂*沙门氏菌*乳胶直接对隔离的菌落执行乳胶凝集试验。

选项 3：可按照 ISO 7218:2024[5] 使用核酸探针法，对从 XLD 或显色培养基（见选项 1 或 2）分离得到的菌落进行检测。此测试不得使用 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*执行。

选项 4：可以使用任何其他 NF VALIDATION 认证方法，原理必须与 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*不同。在执行第二个验证方法时，必须遵循所述的完整方案。两个方法在开始确认前的所有步骤必须是相同的。

如果出现结果不一致（采用 Neogen 沙门氏菌分子检测分析 2 - *沙门氏菌*的结果为假定阳性，且并未通过上述其中一种方法予以确认，尤其是乳胶凝集试验），则实验室必须执行必要的步骤来确保所获得结果的有效性。

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。

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裂解液管重新盖上盖子（请参阅 4.5 **裂解**部分）。
2. 在 4 - 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至少 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. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.10. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and siluriformes (fish) products and carcass and environmental sponges. Effective Date: 2 January 2019.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
7. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
8. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
9. 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.
10. ISO 18593:2018. Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling.
11. US Food and Drug Administration – *Bacteriological Analytical Manual*, Medium M111: Nonfat Dry Milk (Reconstituted). January 2011.
12. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain - part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
13. ISO 6887 (all parts). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
14. Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimmings and Bench Trim | Food Safety and Inspection Service https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-notice/05-23
15. USDA/FSIS Letter of No Objection (NOL) for the MicroTally® Mitt food surface sampler. https://microtally.com/wp-content/uploads/2025/01/Poultry-Mitt-NOL.pdf

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 2026. All rights reserved.
Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
All other trademarks are the property of their respective companies.

© 2026, Neogen. Tous droits réservés.
Neogen est une marque de commerce de Neogen.
Toutes les autres marques de
commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.
FS00869B

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

NEOGEN®

คำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์

ชุดทดสอบเชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen®

รายละเอียดผลิตภัณฑ์และวัตถุประสงค์การใช้งาน

ชุดทดสอบเชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen® จะนำมาใช้กับระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen® สำหรับการตรวจหาเชื้อ ซาลโมเนลล่า อย่างรวดเร็วและเฉพาะเจาะจงในตัวอย่างอาหารที่ได้รับการเลี้ยงเชื้อ อาหารสัตว์ และในตัวอย่างจากสิงแวดล้อมกระบวนการแปรรูปอาหาร

ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุลของี Neogen® ใช้การเพิ่มขยายยีนแบบลูปที่อุณหภูมิเดียว (Loop-mediated isothermal amplification) เพื่อเพิ่มลำดับกรดนิวคลีอิกด้วยวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงและความไวสูงผสานกับการเรืองแสงทางชีวภาพเพื่อตรวจจับการเพิ่มขยายจำนวน ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกจะได้รับการรายงานในทันที ขณะที่ผลการทดสอบที่เป็นลบจะแสดงผลภายหลังจากที่การทดสอบดังกล่าวเสร็จสมบูรณ์แล้ว ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกควรได้รับการยืนยันโดยใช้วิธีการที่ท่านเห็นสมควรหรือตามที่ระบุไว้ในระเบียบข้อบังคับต่าง ๆ ในท้องถิ่น[1, 2, 3]

ชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen ออกแบบมาให้ใช้ในสภาพแวดล้อมห้องปฏิบัติการโดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ผ่านการอบรมเทคนิคการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์นี้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ นอกจากอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องดื่ม ตัวอย่างเช่น Neogen ยังไม่ได้ออกเอกสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้สำหรับการทดสอบตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างเกี่ยวกับสัตว์ ชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen ยังไม่ได้รับการประเมินกับผลิตภัณฑ์อาหาร การแปรรูปอาหาร ระเบียบการทดสอบที่เป็นไปได้ทั้งหมดหรือกับสายพันธุ์แบคทีเรียที่เป็นไปได้ทั้งหมด

แหล่งที่มา สูตร และคุณภาพของอาหารสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อสามารถส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบที่ได้เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่นๆ นอกจากนี้ ปัจจัยต่างๆ เช่น วิธีการสุ่มเก็บตัวอย่าง ระเบียบการทดสอบ การเตรียมตัวอย่าง การจัดการและเทคนิคที่ใช้ในห้องปฏิบัติการอาจส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบที่ได้ด้วยเช่นกัน Neogen ขอแนะนำให้ประเมินวิธีการทดสอบรวมทั้งอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อในสภาพแวดล้อมของผู้ใช้โดยใช้จำนวนตัวอย่างที่เพียงพอกับอาหารแต่ละชนิดและสภาวะที่มีความท้าทายกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการดังกล่าวเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้

Neogen ได้ประเมินชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen 2 - ซาลโมเนลลา โดยใช้Buffered Peptone Water (BPW) ISO เป็นอาหารเหลวสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ

เครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen® มีจุดมุ่งหมายในการใช้กับตัวอย่างที่ได้ผ่านกระบวนการให้ความร้อนในระหว่างขั้นตอนการไลซีสของการทดสอบซึ่งได้รับการออกแบบมาเพื่อทำลายเชื้อที่มีในตัวอย่าง ตัวอย่างซึ่งไม่ได้รับความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการไลซีสของชุดทดสอบอาจถือว่าเป็นสารที่อาจมีอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของี Neogen

Neogen Food Safety ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO (องค์การระหว่างประเทศว่าด้วยการมาตรฐาน) 9001 ด้านการออกแบบและการผลิต

ชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen มีทั้งหมด 96 หลอดทดสอบตามที่อธิบายไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุลของี Neogen

รายการ	ลักษณะ	จำนวน	สิ่งที่บรรจุ	ความคิดเห็น
สารละลายไลซีส Neogen® (LS)	สารละลายสีชมพูในหลอดใส	96 หลอด (12 แถว แถวละ 8 หลอด)	LS ปริมาณ 580 µL ต่อหลอด	บรรจุอยู่ในที่วางและพร้อมใช้งาน
หลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี Neogen®	หลอดสีเขียว	96 หลอด (12 แถว แถวละ 8 หลอด)	ส่วนผสมสำหรับการเพิ่มขยายและการตรวจหาเชื้อก่อโรคแบบเฉพาะเจาะจงที่ไลโอฟิไลซ์แล้ว	พร้อมใช้งาน
ฝาสำรอง	ฝาเขียว	96 ฝา (12 แถว แถวละ 8 ฝา)		พร้อมใช้งาน
Neogen® รีเอเจ้นท์คอนโทรล (RC)	หลอดใสชนิดเปิดฝาด้านบน	16 หลอด (2 ถุง ถุงละ 8 หลอด)	ส่วนผสมที่ทำไลโอฟิไลซ์สำหรับควบคุม DNA การเพิ่มขยายและการตรวจหา	พร้อมใช้งาน

ชุดควบคุมผลลบหรือ Negative Control (NC) เป็นอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อที่ปลอดเชื้อ เช่น BPW ISO ไม่ได้รวมอยู่ในชุดอุปกรณ์ ห้ามใช้น้ำเป็น NC

ความปลอดภัย

ผู้ใช้ควรอ่าน ทำความเข้าใจ และปฏิบัติตามข้อมูลความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำการใช้งานระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของี Neogen และ Neogen ชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 เก็บคำแนะนำด้านความปลอดภัยนี้ไว้สำหรับใช้อ้างอิงในอนาคต

⚠ **คำเตือน:** บ่งชี้ว่าเป็นสถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่มีการหลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดการเสียชีวิตหรือการบาดเจ็บรุนแรงและ/หรือความเสียหายต่อทรัพย์สินได้

ข้อสังเกต: ระบุสถานการณ์ที่อาจเป็นอันตราย หากไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อทรัพย์สิน

⚠ คำเตือน

ห้ามใช้ชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen ในการวินิจฉัยโรคในมนุษย์หรือสัตว์

ผู้ใช้ต้องฝึกอบรมบุคลากรเกี่ยวกับเทคนิคการทดสอบที่เหมาะสมในปัจจุบัน: ตัวอย่างเช่น แนวปฏิบัติที่ดีในห้องปฏิบัติการ[4] ISO 7218:2024[5] หรือหลักความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาและชีวการแพทย์ (BMBL) ของศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติสหรัฐอเมริกา (CDC)[6]

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับผลลบปลอมซึ่งนำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนไปขาย ให้ปฏิบัติดังนี้:

- ปฏิบัติตามระเบียบการและดำเนินการทดสอบดังที่ระบุไว้อย่างชัดเจนในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- เก็บชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen ตามที่ระบุไว้บนบรรจุภัณฑ์และในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- ใช้ชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen ก่อนวันหมดอายุเสมอ
- ใช้ชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen กับตัวอย่างอาหารและตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมในกระบวนการผลิตอาหาร ซึ่งได้รับการพิสูจน์ยืนยันเป็นการภายในหรือโดยหน่วยงานภายนอกแล้ว
- ใช้ชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen เฉพาะกับพื้นผิว สารฆ่าเชื้อ วิธีการและสายพันธุ์แบคทีเรียที่ผ่านการตรวจสอบภายในหรือโดยบุคคลที่สามแล้วเท่านั้น
- สำหรับตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมที่มีบัฟเฟอร์สำหรับทำให้เป็นกลางโดยมีสารประกอบเชิงซ้อนของเอริลซัลโฟเนตอยู่ด้วย ให้ทำการเจือจางด้วยอัตราส่วน 1:2 ก่อนที่จะทดสอบ (เติมตัวอย่าง 1 ส่วนลงในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 ส่วน) อีกหนึ่งตัวเลือกคือ ถ่ายบัฟเฟอร์ที่เป็นกลางที่มีการเพิ่มเชื้อปริมาณ 10 µL เข้าไปยังหลอดสารละลายไลซีส Neogen ผลิตภัณฑ์สำหรับการเก็บตัวอย่างของ Neogen® ซึ่งประกอบด้วยบัฟเฟอร์ที่ทำให้เป็นกลางที่มีสารประกอบเชิงซ้อนเอริลซัลโฟเนต: 700002040 | RS96010NB, 700002011 | RS9604NB 700002003 | SSL10NB, 700002004 | SSL10NB2G, 700002213 | HS10NB, and 700002002 | HS10NB2G

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารเคมีหรือสารอันตรายทางชีวภาพ ให้ปฏิบัติดังนี้:

- ให้ทำการทดสอบเชื้อก่อโรคในห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์อย่างเหมาะสมภายใต้การควบคุมของบุคลากรที่ได้รับการอบรม อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อที่บ่มแล้ว และอุปกรณ์หรือพื้นผิวที่มีการสัมผัสกับอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อที่บ่มแล้ว อาจจะมีเชื้อโรคในระดับเพียงพอที่จะก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์ได้
- ปฏิบัติตามแนวปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการมาตรฐานทุกครั้งโดยรวมถึงการสวมเครื่องแต่งกายเพื่อป้องกันและอุปกรณ์ปกป้องดวงตาในขณะที่ปฏิบัติงานกับรีเอเจนต์และตัวอย่างที่มีการปนเปื้อน
- หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับอาหารหลังบ่มเพิ่มจำนวนเชื้อและหลอดบรรจุรีเอเจนต์ภายหลังการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ
- กำจัดตัวอย่างหลังเพิ่มจำนวนเชื้อตามมาตรฐานของท้องถิ่น/ภูมิภาค/ประเทศ/อุตสาหกรรมในปัจจุบัน
- ตัวอย่างซึ่งไม่ได้รับความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการไลซีสของชุดทดสอบอาจถือว่าเป็นสารที่อาจมีอันตรายทางชีวภาพและไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของี Neogen

เพื่อลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนข้ามขณะเตรียมชุดทดสอบ ให้ปฏิบัติดังนี้:

- สวมถุงมือตลอดเวลา (เพื่อปกป้องผู้ใช้งานและป้องกันการเกิดนิวคลีเอส)

ควรปฏิบัติดังนี้เพื่อลดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม:

- ปฏิบัติตามข้อกำหนดของท้องถิ่น ภูมิภาค และประเทศสำหรับข้อกำหนดด้านการกำจัดของเสีย

เพื่อเป็นการลดความเสี่ยงอันเกิดจากการสัมผัสโดนของเหลวร้อน ให้ปฏิบัติดังนี้:

- ห้ามใช้อุณหภูมิสูงกว่าที่แนะนำไว้บนเครื่องทำความร้อน
- ห้ามใช้เวลาทำความร้อนเกินที่แนะนำ
- ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่ได้รับการสอบเทียบตามมาตรฐานและเหมาะสม เพื่อยืนยันอุณหภูมิของของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล ของี Neogen® (เช่น เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วน หรือเทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิทัล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) จะต้องวางเทอร์โมมิเตอร์ในบริเวณที่กำหนดไว้ของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล ของี 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

- ห้ามเปิดหลอดรีเอเจนต์หลังการเพิ่มขยายจำนวน
- กำจัดหลอดทดลองที่ปนเปื้อนแล้วเสมอ โดยแช่ในน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ผสมกับน้ำตามอัตราส่วน) เป็นเวลา 1 ชั่วโมงและให้อยู่ห่างจากพื้นที่จัดเตรียมชุดทดสอบทุกครั้ง
- ห้ามนึ่งฆ่าเชื้อหลอดรีเอเจนต์ภายหลังการเพิ่มขยายจำนวน

ศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในเอกสารข้อมูลความปลอดภัยและระเบียบข้อบังคับการกำจัดทิ้งในประเทศ

หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการใช้งานหรือกรรมวิธีที่เฉพาะเจาะจงใดๆ โปรดเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราที่ www.neogen.com หรือติดต่อตัวแทนจำหน่ายหรือผู้จัดจำหน่ายของบริษัท Neogen ในท้องถิ่นของท่าน

ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ใช้จะต้องทำความเข้าใจเกี่ยวกับคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์และข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม สามารถเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเรา **www.neogen.com** หรือติดต่อตัวแทน Neogen ในพื้นที่ของท่าน

เมื่อเลือกวิธีทดสอบ การคำนึงถึงปัจจัยภายนอกนั้นเป็นสิ่งสำคัญ เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง วิธีการทดสอบ วิธีการเตรียมตัวอย่าง การจัดการควบคุม เทคนิคของห้องปฏิบัติการรวมถึงตัวอย่างเองที่อาจส่งผลกระทบต่อผลลัพธ์ได้

ผู้ใช้เป็นผู้รับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบหรือวิธีการเลือกตัวอย่าง เพื่อประเมินจำนวนตัวอย่างที่เพียงพอ โดยใช้เมทริกซ์และการตรวจสอบความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ที่เหมาะสม เพื่อให้ผู้ใช้แน่ใจว่าวิธีการทดสอบที่เลือกนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้เอง

นอกจากนี้ ผู้ใช้จะต้องรับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบและผลลัพธ์ที่ได้ให้เป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและของผู้จัดส่งสินค้า

เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่นๆ ผลการทดสอบที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ใดก็ตาม ไม่ได้รับประกันถึงคุณภาพของเมทริกซ์หรือขั้นตอนที่ใช้ทดสอบ

เพื่อช่วยให้ลูกค้าสามารถประเมินความเหมาะสมของวิธีการทดสอบสำหรับวัตถุประสงค์ที่กำหนดในระหว่างการนำไปใช้งาน Neogen ได้พัฒนาชุดชุดตัวควบคุมดูผลของเมทริกซ์ในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen (เรียกอีกอย่างว่า การควบคุมการเพิ่มขยายจำนวน ตามมาตรฐาน ISO 24914:2026)[7]) ใช้ตัวควบคุมดูผลของเมทริกซ์เพื่อประเมินการรบกวนจากเมทริกซ์ต่อผลลัพธ์ของชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen 2 - ซาลโมเนลลา ในระหว่างการตรวจสอบความถูกต้องและการยืนยันผล ปฏิบัติตามมาตรฐาน ISO 16140-3:2021[8] และ / หรือโปรแกรมประกันคุณภาพขององค์กรของคุณ เพื่อกำหนดจำนวนตัวอย่างที่เป็นตัวแทนที่เหมาะสมในการยืนยันสมรรถนะของวิธีการและกำหนดขอบเขตการประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการของคุณ การใช้ตัวควบคุมเมทริกซ์ในการตรวจจับระดับโมเลกุลของ Neogen เป็นประจำไม่จำเป็นต้องดำเนินการอีกต่อไป เมื่อวิธีการได้รับการยืนยันและขอบเขตการประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการได้รับการกำหนดแล้ว ให้ปฏิบัติตามโปรแกรมประกันคุณภาพขององค์กรเพื่อพิจารณาเป็นรายกรณีถึงความจำเป็นในการใช้ตัวควบคุมเมทริกซ์ในการตรวจจับระดับโมเลกุลของ Neogen และความถี่ในการใช้งานระหว่างการทดสอบตามปกติ

สามารถให้คำจำกัดความของเมทริกซ์ได้ว่า เป็นชนิดของผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติที่มาที่แตกต่างกัน เช่น องค์ประกอบหลักและกระบวนการแปรรูปที่ต่างกัน ความแตกต่างระหว่างเมทริกซ์ชนิดต่าง ๆ อาจเป็นเพียงผลที่เกิดจากความแตกต่างของการแปรรูปหรือสภาพลักษณะตัวอย่างเช่น ตัวอย่างดิบเทียบกับผ่านการฆ่าเชื้อแบบพาสเจอไรส์ สดเทียบกับแห้ง

เงื่อนไขการรับประกัน/การชดเชยแบบจำกัด

NEOGEN ปฏิเสธการรับประกันทั้งหมดทั้งอย่างชัดแจ้งและโดยนัย รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการรับประกันใดๆ ถึงความสามารถในการจำหน่าย หรือความเหมาะสมสำหรับการใช้งานโดยเฉพาะ เว้นแต่จะได้อธิบายไว้อย่างชัดแจ้งในส่วนการรับประกันแบบจำกัดว่าด้วยบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชิ้น หากผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ใดๆ มีตำหนิบกพร่อง บริษัท Neogen หรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตของบริษัทจะใช้ดุลยพินิจของตนในการพิจารณาเปลี่ยนแทนผลิตภัณฑ์หรือคืนเงินค่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าว และถือเป็นการชดเชยเพียงอย่างเดียวเท่านั้น หากสงสัยว่ามีข้อบกพร่องหรือความเสียหายกับสินค้า ท่านต้องแจ้ง Neogen ภายใน 60 วันหลังจากที่พบ และทำการคืนสินค้าที่เสียหายให้ทาง Neogen โปรดโทรติดต่อแผนกบริการลูกค้า (1-800-328-1671 ในสหรัฐอเมริกา) หรือตัวแทน Neogen Food Safety เพื่อขอสิทธิ์ส่งคืนผลิตภัณฑ์ โปรดติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จัดจำหน่าย Neogen ที่ได้รับอนุญาตหากมีคำถามเพิ่มเติม

ขอบเขตความรับผิดชอบของ Neogen

NEOGEN จะไม่รับผิดชอบต่อการสูญเสียหรือความเสียหายใดๆ ทั้งโดยตรง โดยอ้อม ความเสียหายจำเพาะ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการผิดสัญญา หรือที่เป็นผลสืบเนื่อง รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ความรับผิดชอบของทาง Neogen ในทางกฎหมายจะต้องไม่เกินมูลค่าของผลิตภัณฑ์ที่เสียหายหรือบกพร่องไม่ว่ากรณีใดๆ ก็ตาม

สำหรับข้อกำหนดและเงื่อนไขฉบับสมบูรณ์ของ Neogen โปรดเยี่ยมชมได้ที่: https://www.neogen.com/en/terms-and-conditions/

การเก็บรักษาและการกำจัด

เก็บชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen ไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C อย่าแช่แข็ง เก็บชุดอุปกรณ์ให้พ้นแสงในระหว่างการเก็บรักษา หลังจากเปิดชุดอุปกรณ์แล้ว ให้ตรวจสอบว่าถุงฟอยล์ไม่ชำรุดเสียหาย หากถุงฟอยล์ชำรุดเสียหาย ห้ามใช้ผลิตภัณฑ์นั้น หลังจากเปิดแล้ว ควรเก็บรักษาหลอดรีเอเจนต์ที่ยังไม่ได้ใช้ไว้ในถุงที่ซีลปิดซ้ำได้โดยมีสารดูดความชื้นใส่อยู่ภายในเพื่อให้รีเอเจนต์ที่ทำแห้งเยือกแข็งแล้วอยู่ในสภาวะคงตัว เก็บรักษาถุงที่ซีลปิดซ้ำแล้วไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C เป็นเวลาไม่เกิน 60 วัน

ห้ามใช้ชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen ที่เลยวันหมดอายุแล้ว วันหมดอายุและหมายเลขล็อตจะแสดงไว้บนฉลากด้านนอกของกล่อง หลังใช้งาน อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อและหลอดของชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen อาจมีสารจากเชื้อก่อให้เกิดโรคอยู่ เมื่อการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว ให้ปฏิบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรมในปัจจุบันสำหรับการกำจัดและทิ้งขยะปนเปื้อน ศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในเอกสารข้อมูลความปลอดภัยและระเบียบข้อบังคับการกำจัดทิ้งในประเทศ

คำแนะนำการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ หากไม่ปฏิบัติเช่นนั้น อาจให้ผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำได้

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

ผู้ใช้ควรผ่านการฝึกอบรมคุณสมบัติสำหรับผู้ปฏิบัติงาน ระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen ตามที่ระบุในเอกสาร "แนวทางและระเบียบการด้านคุณสมบัติการติดตั้ง (IQ) / คุณสมบัติการปฏิบัติการ (OQ) สำหรับระบบการทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen"[9]

ดูในส่วน “คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีการที่ได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี” สำหรับข้อกำหนดเฉพาะ:

ตารางที่ 3 สำหรับระเบียบการเพิ่มจำนวนเชื้อตามมาตรฐาน AOAC® *Official Method of Analysis℠* **2016.01** และตามใบรับรอง AOAC® *Performance Tested℠* Certificate **#091501**

ตารางที่ 4 สำหรับระเบียบการเพิ่มจำนวนเชื้อตามใบรับรองของ NF VALIDATION **3M 01/16 -11/16**

การเพิ่มจำนวนเชื้อในตัวอย่าง

ตารางที่ 2, 3 และ 4 แสดงแนวทางสำหรับโปรโตคอลการเพิ่มจำนวนเชื้อโดยทั่วไปสำหรับตัวอย่างอาหาร อาหารสัตว์ และตัวอย่างสิ่งแวดล้อม

ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการตรวจสอบระเบียบการสุ่มตัวอย่างหรืออัตราส่วนการเจือจางแบบอื่นว่าใช้ได้ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการทดสอบนี้สอดคล้องกับเกณฑ์ของผู้ใช้งาน

อาหาร

1. ให้อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวน BPW ISO ปรับสมดุลเข้ากับอุณหภูมิโดยรอบในห้องปฏิบัติการ หรืออุณหภูมิระดับ 41.5 ± 1°C ซึ่งขึ้นอยู่กับแมทริกซ์ที่ทดสอบ โปรดดูตาราง 2, 3 หรือ 4
2. ผสมอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อกับตัวอย่างเข้าด้วยกันโดยใช้วิธีการแบบปลอดเชื้อ
3. ผสมให้เข้ากันเป็นอย่างดีด้วยวิธีการปั่นผสม การเขย่า หรือ การผสมด้วยมือเป็นระยะเวลา 2 ± 0.2 นาที หรือ จนกว่าทุกๆ ก้อนจะละลายจนหมดและสารแขวนลอยของสารอาหารมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน[13]
   a. สำหรับตัวอย่างประเภทเนื้อสัตว์ทั้งหมดที่มีลักษณะเป็นละอองอนุภาคขนาดเล็ก แนะนำให้ใช้ถุงกรอง
   b. สำหรับเมทริกซ์ต่างๆ ที่จะบวมในน้ำและมีความหนืดสูง (เช่น ธัญพืช แป้งต่างๆ) แนะนำว่าให้เจือจางเพิ่ม (> 1:10) จนกว่าความหนืดจะลดลงในระดับที่เหมาะสมหรือเพิ่มแอลฟาอะไมเลสปลอดเชื้อ 1% โดยมวล/ปริมาตรลงใน BPW (ISO)[13]
   c. สำหรับตัวอย่างนมผงและธัญพืชที่มีปริมาณมาก ค่อยๆ เติมตัวอย่างลงในของเหลวโดยคนบ่อยๆ เพื่อไม่ให้จับตัวกันเป็นก้อน
4. บ่มเชื้อไว้ดังที่อธิบายไว้ในตารางวิธีการที่เกี่ยวข้อง (ดูตาราง2 3 หรือ 4)

ตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม

อุปกรณ์เก็บตัวอย่างอาจเป็นฟองน้ำชุบสารละลายที่ทำให้เป็นกลางเพื่อยับยั้งฤทธิ์ของสารฆ่าเชื้อ Neogen แนะนำให้ใช้ฟองน้ำเซลลูโลสที่ไม่มีไบโอไซด์ สารละลายที่ทำให้เป็นกลางอาจเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นกลาง Dey-Engley (D/E) หรืออาหารเลี้ยงเชื้อ Letheen ควรทำการฆ่าเชื้อในพื้นที่หลังจากการเก็บตัวอย่าง

คำเตือน: หากคุณเลือกที่จะใช้บัฟเฟอร์สำหรับทำให้เป็นกลาง (NB) ซึ่งประกอบด้วยสารเชิงซ้อนของเอริลซัลโฟเนตเป็นสารละลายเพื่อทำให้ฟองน้ำชุ่มชื้น ต้องทำการเจือจางตัวอย่างหลังเพิ่มจำนวนเชื้อแล้วในอัตราส่วน 1:2 (ตัวอย่าง 1 ส่วนในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 ส่วน) ก่อนการทดสอบเพื่อที่จะลดความเสี่ยงอันเกี่ยวของกับผลลบที่เป็นเท็จซึ่งนำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนออกสู่ภายนอกได้ อีกหนึ่งตัวเลือกคือถ่ายบัฟเฟอร์ที่เป็นกลางที่มีการเพิ่มเชื้อปริมาณ 10 µL เข้าไปยังหลอดสารละลายไลซีส Neogen

ขนาดพื้นที่เก็บตัวอย่างที่แนะนำเพื่อตรวจสอบยืนยันการมีอยู่หรือการไม่มีอยู่ของเชื้อก่อโรคบนพื้นผิวคือขนาดอย่างน้อย 100 cm^2 (10 ซม. x 10 ซม. หรือ 4” x 4”) เมื่อทำการเก็บตัวอย่างด้วยฟองน้ำ ให้ครอบคลุมพื้นที่โดยรวมทั้งสองทิศทาง (กล่าวคือ จากซ้ายไปขวา และจากบนลงล่าง) หรือเก็บตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมตามขั้นตอนการเก็บตัวอย่างปัจจุบันของคุณ หรือตามมาตรฐาน FDA BAM[1], USDA FSIS MLG[2] หรือแนวทางตามมาตรฐาน ISO 18593:2018[10]

ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการตรวจสอบระเบียบการสุ่มตัวอย่างหรืออัตราส่วนการเจือจางแบบอื่นว่าใช้ได้ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการทดสอบนี้สอดคล้องกับเกณฑ์ของผู้ใช้งาน

1. อุ่นอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อ BPW ISO ไว้ก่อนล่วงหน้าที่ระดับอุณหภูมิ 41.5 ± 1°C ซึ่งขึ้นอยู่กับเมทริกซ์ที่ทดสอบ โปรดดูตาราง 2, 3 หรือ 4
2. ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อกับตัวอย่างด้วยเทคนิคปลอดเชื้อตามตารางที่ 2, 3 หรือ 4 แนะนำให้ใช้ถุงกรองสำหรับตัวอย่างเนื้อสัตว์และและตัวอย่างที่มีอนุภาคจำนวนมากทั้งหมด
3. ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยการปั่น การตีบดผสมจากนอกถุง หรือการผสมด้วยมือเป็นเวลา 2 ± 0.2 นาที บ่มเพาะเชื้อตัวอย่างตามที่ระบุไว้ในตารางโปรโตคอลที่เหมาะสม ดูตารางที่ 2, 3 หรือ 4

อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง

1. สำหรับผ้าเก็บตัวอย่าง - ให้ปฏิบัติตามแนวทางของ FSIS ที่ระบุไว้ใน *วิธีการเก็บตัวอย่างด้วยผ้าเพื่อทดแทนการเก็บตัวอย่างแบบตัดตาม N60 สำหรับเนื้อวัวที่ผ่านการตัดแต่งในการผลิตและ การตัดแต่งบนเนื้อบนโต๊ะปฏิบัติงาน*[14] โดยเก็บตัวอย่างจากเมทริกซ์ด้วยผ้าเป็นเวลา 90 วินาที ด้านละ 45 วินาที
2. สำหรับถุงมือเก็บตัวอย่าง - ให้ปฏิบัติตามแนวทางที่ระบุไว้ใน USDA Agricultural Research Service No Objection Letter(15) โดยทำให้ถุงมือชุ่มด้วย nBPW ปริมาณ 25 มล.ก่อนใช้งาน จากนั้นขัดถูเมทริกซ์เป็นเวลา 15 วินาทีด้านหนึ่ง พลิกถุงมือและขัดถูต่ออีก 15 วินาที พับถุงมือครึ่งหนึ่งและพับครึ่งอีกครั้ง แล้ววางลงในถุงตัวอย่าง
3. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อ BPW ISO สำหรับการเพิ่มจำนวนเชื้อปรับสมดุลอุณหภูมิที่ 41.5 ±1 °C
4. ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเพิ่มจำนวนเชื้อและตัวอย่างภายใต้เทคนิคปลอดเชื้อ โดยให้แน่ใจว่าอุปกรณ์เก็บตัวอย่างจมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. ผสมตัวอย่างทั้งหมดด้วยมือหรือวิธีการตีบดผสมจากนอกถุงเป็นเวลาอย่างน้อย 30 วินาที ตรวจสอบให้แน่ใจว่าอุปกรณ์เก็บตัวอย่างถูกดันลงไปที่ก้นถุงและจมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นบ่มตามที่ระบุไว้ในตารางโปรโตคอลที่เหมาะสม (ดูตารางที่ 2 หรือ 3)

ตารางที่ 2 ระเบียบการของอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อทั่วไป

เมทริกซ์ตัวอย่าง	ขนาดตัวอย่าง	ปริมาตรอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (±1°C)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)	ปริมาตรการวิเคราะห์ตัวอย่าง (ไมโครลิตร)(ก)
ระเบียบการที่ 1 ผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านการแปรรูป (ไม่รวมไข่ผง และผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ระบุไว้ในระเบียบการอื่น ๆ)(ข)	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-26	20
ระเบียบการที่ 2 อาหารดิบและอาหารที่ไม่ผ่านการแปรรูป ไข่ผง อาหารสัตว์ และตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม(ค)	25 g	225 mL BPW ISO (อุ่นไว้ลวงหน้า)	41.5	18-26	20
ระเบียบการที่ 3 ผลิตภัณฑ์นมชนิดผง (ได้แก่ นมผงสำหรับทารก นมผงสำหรับทารกประเภทที่ทำจากถั่วเหลือง)	25 g	225 mL BPW ISO	37	20-26	20
ระเบียบการที่ 4 ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากโกโก้ (ชนิดผง ช็อคโกแลต ลูกกวาด ฯลฯ)	25 g	นมผงพร่องมันเนยแบบปลอดเชื้อความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตรปริมาณ 225 มล. ที่ย้อมสีบริลเลียนต์กรีนความเข้มข้น 0.002%(ง,จ,ฉ)	37	24-30	20
ระเบียบการที่ 5 อื่น ๆ ได้แก่ เครื่องเทศ สมุนไพรที่มีกลิ่นหอม น้ำผลไม้เข้มข้น ชาและกาแฟพร้อมชง ซุปก้อน	25 g	2X BPW ISO 235 มล. ที่มี K_2SO_3 0.5% + นมผงพร่องมันเนยแบบปลอดเชื้อความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณ 240 มล./L(ง,ช,ฌ)	37	24-30	10
ระเบียบการที่ 6 วูอลน์ทหรือถั่วเปลือกแข็งต่างๆ ที่ผสมด้วยวอลนัท (ขั้นตอนวิธีนี้เหมาะสำหรับถั่วเปลือกแข็งชนิดอื่นๆ ได้แก่ พีแคน อัลมอนด์ พิสตาชีโอ เม็ดมะม่วงหิมพานต์ เกาลัด ถั่วแมคาเดเมีย ถั่วบราซิล ถั่วเหลือง และถั่วลิสง)	25 g	นมผงพร่องมันเนยแบบปลอดเชื้อ ความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร ปริมาณ 225 มล.(ง)	37	18-24	20
โปรโตคอล 7 ถุงเท้าครอบรองเท้าบูท	1 คู่ – 2 ข้าง	BPW ISO 2X ปริมาตร 225 มล.(ญ)	37	20-26	10
โปรโตคอล 8 ถุงเท้าครอบรองเท้าบูท (ที่มีความเข้มข้นแคลเซียมสูง)	1 คู่ – 2 ข้าง	BPW ISO 2X ปริมาตร 225 มล. (หลังการเพิ่มจำนวนเชื้อให้ถ่ายโอน 1 มล. ลงใน BPW ISO 9 มล. หรือ 100 µL ลงใน BPW ISO 9.9 มล.)(ญ,ด)	37	20-26	10
โปรโตคอล 9 อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง (เนื้อวัวดิบที่ผ่านการตัดแต่ง ชิ้นส่วนสัตว์ปีกดิบ ซากสัตว์ปีกดิบ เนื้อหมูดิบที่ผ่านการตัดแต่ง)	ผ้าเก็บตัวอย่าง 1 ผืน หรือ ถุงมือเก็บตัวอย่าง 1 ข้าง	BPW ISO ปริมาตร 200 มล. (อุ่นล่วงหน้า)	41.5	10-24	20

(ก) ปริมาตรตัวอย่างที่นำไปใส่ไว้ในหลอดสารละลายไลซิส โปรดดูในขั้นตอน 4.7 ในหัวข้อไลซิส

(ข) ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่นำมาทดสอบในระเบียบการที่ 1: อาหารพร้อมรับประทาน สลัดที่ขายในร้านค้า และคัสตาร์ด

(ค) ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่นำมาทดสอบในระเบียบการที่ 2: เนื้อดิบ ผักแช่แข็ง เนยแข็งทุกชนิด นมเปรี้ยว ผักสลัดดิบ (ผักกาดหอม, ผักกาดหอมปัตตาเวีย)

(ง) นมยูเอชทีพร่องมันเนยสามารถนำมาใช้แทนนมผงพร่องมันเนยได้

(จ) ปริมาณ 0.45 มล. ของสีย้อมบริลเลียนต์กรีนชนิดน้ำที่มีค่าความเข้มข้น 1% ต่อนมพร่องมันเนยปริมาณ 225 มล. ซึ่งให้ความเข้มข้นขั้นสุดท้ายของสีย้อมบริลเลียนต์กรีนที่ระดับ 0.002% (0.02 กรัมต่อลิตร)

(ฉ) เพื่อเตรียมนมผงพร่องมันเนยแบบปลอดเชื้อ ให้แขวนลอยนมผงพร่องมันเนยปริมาณ 100 กรัม ที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งไว้ในน้ำกลั่นหรือน้ำบริสุทธิ์ในปริมาณ 1 ลิตร คนไปมาจนกว่าจะละลาย นึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิ 121°C จัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-30°C(11)

(ช) K_2SO_3 ปริมาณ 5 กรัม ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ BPW ISO 1000 มล. ของ ซึ่งจะทำให้ได้ค่าความเข้มข้นขั้นสุดท้ายของ K_2SO_3ที่ระดับ 0.5%

(ฌ) ต้องเติมนมผงพร่องมันเนยแบบปลอดเชื้อที่มีความเข้มข้น 100 กรัม/ลิตร ปริมาณ 240 มล.ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2X BPW ISO ปริมาณ 235 มล. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่มี K_2SO_3 0.5%

(ญ) เตรียมที่ความเข้มข้นสองเท่า

(ด) เมื่อถุงเท้าบูตมีความเข้มข้นแคลเซียมสูง จำเป็นต้องเจือจางอาหารเหลวสำหรับเพิ่มจำนวนในอัตราส่วน 1:10 หรือ 1:100 โดยถ่ายโอน 1 มล. ลงใน BPW ISO 9 มล. (การเจือจาง 1:10) หรือ 100 µL ลงใน BPW ISO 9.9 มล. (การเจือจาง 1:100)

หากใช้ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนเชื้อทุติยภูมิแบบเผื่อเลือก เช่น อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อ Rappaport Vassiliadis กรณีนี้จำเป็นต้องทำการเจือจางในอัตราส่วน 1:2 (เติมตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ส่วนลงในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 ส่วน) หรือ เพียงแค่ถ่ายโอนอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อทุติยภูมิในปริมาณ 10 µL ไปยังหลอดสารละลายไลซิส Neogen หากใช้อาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ Tetrathionate (TT) ให้ถ่ายอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อทุติยภูมิในปริมาณ 20 µL ไปยังหลอดสารละลายไลซิส Neogen และห้ามกวนอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อ TT หรือปิเปตต์จากก้นหลอดอาหารเพิ่มจำนวนชื้อเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการถ่ายโอนตะกอนใด ๆ ที่อาจเกิดขึ้นได้

คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีการทดสอบที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

AOAC® *Official Methods of Analysis℠* 2016.01

AOAC® *Performance Tested℠* Certificate #091501

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 091501

จากโครงการ OMA℠ และ PTM℠ ของสถาบันวิจัย AOAC Research Institute พบว่าชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี Neogen เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการตรวจหา เชื้อซาลโมเนลล่า เมทริกซ์ที่ได้รับการทดสอบในการศึกษาดังกล่าวแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ขั้นตอนปฏิบัติในการเพิ่มจำนวนเชื้อตามมาตรฐาน AOAC OMA℠ 2016.01 และตามใบรับรอง AOAC PTM℠ Certificate #091501 ปริมาตรของตัวอย่างที่นำไปใส่ไว้ในหลอดสารละลายไลซิส Neogen คือ 20 ไมโครลิตร

เมทริกซ์ตัวอย่าง	ขนาดตัวอย่าง	ปริมาตรอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (±1°C)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)
เนื้อวัวดิบบด	25 g	225 mL BPW ISO (อุ่นไว้ลวงหน้า)	41.5	10-24
	325 g	975 mL BPW ISO (อุ่นไว้ลวงหน้า)		
เนื้อไก่ดิบบด	25 g	225 mL BPW ISO (อุ่นไว้ลวงหน้า)	41.5	10-24
	325 g	975 mL BPW ISO (อุ่นไว้ลวงหน้า)	41.5	14-24
เนื้อไก่ชุบแป้งทอดสุก	325 g	2,925 mL BPW ISO	37	18-24
อาหารสุนัขชนิดแห้ง	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24
	375 g	1,500 mL BPW ISO		
พริกไทยดำ กุ้งดิบทั้งตัว ผักโขมดิบ บรรจุถุง เนยแข็งอเมริกันที่ผ่านการพาสเจอไรซแล้ว	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24
น้ำล้างซากเนื้อไก่	30 มล.	30 mL BPW ISO (อุ่นไว้ลวงหน้า)	41.5	18-24
ฟองน้ำป้ายซากเนื้อไก่	ฟองน้ำ 1 ชิ้น	50 mL BPW ISO (อุ่นไว้ลวงหน้า)	41.5	18-24
นมผงพร่องมันเนยแบบพร้อมรับประทาน	25 g	225 mL BPW ISO	37	20-24
ผงโกโก้	25 g	225 mL BPW ISO	37	24-28
ไข่ดิบทั้งฟองที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้ว	100 มล.	900 mL BPW ISO	37	18-24
น้ำรดต้นกล้าที่ใช้แล้ว	375 มล.	3,375 mL BPW ISO	37	18-24
เนยถั่วชนิดครีม	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24
	375 g	3,375 mL BPW ISO		
ดอกกัญชาแห้ง ดอกกัญชงแห้ง[(b)]	10 g	90 BPW-ISO	41.5	28-32

ถุงเท้าครอบรองเท้าบูท[a]		1 คู่ – 2 ข้าง	BPW ISO 2X ปริมาตร 225 มล. [c]	37	20-26
ถุงเท้าครอบรองเท้าบูท (ที่มีความเข้มข้นแคลเซียมสูง)[a]		1 คู่ – 2 ข้าง	BPW ISO 2X ปริมาตร 225 มล. หลังการเพิ่มจำนวนเชื้อ ให้ถ่ายโอน 1 มล. ลงใน BPW ISO 9 มล. หรือ 100 µL ลงใน BPW ISO 9.9 มล.) [c, d]	37	20-26
อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง (เนื้อวัวดิบที่ผ่านการตัดแต่ง เนื้อหมูดิบที่ผ่านการตัดแต่ง)		ผ้าเก็บตัวอย่าง 1 ผืน[e]	BPW ISO ปริมาตร 200 มล. (อุณลวงหน้า)	41.5	10-24
อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง (ชิ้นส่วนสัตว์ปีกดิบ ซากสัตว์ปีกดิบ)		ถุงมือเก็บตัวอย่าง 1 ข้าง [e]	BPW ISO ปริมาตร 200 มล. (อุณลวงหน้า)	41.5	10-24
จากสิ่งแวดล้อม	คอนกรีตแบบปิดผนึก	ฟองน้ำ 1 ชิ้น	225 mL BPW ISO (อุณไวลวงหน้า)	41.5	18-24
	เหล็กสแตนเลส	ไม้สำลีป้ายเก็บตัวอย่าง 1 อัน	10 mL BPW ISO (อุณไวลวงหน้า)	41.5	18-24
	กระเบื้องเซรามิกแบบปิดผนึก	ฟองน้ำ 1 ชิ้น	50 mL BPW ISO (อุณไวลวงหน้า)	41.5	18-24

เมทริกซ์ตัวอย่าง	ขนาดตัวอย่าง	ปริมาตรอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (±1°C)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)	อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อทุติยภูมิ (มล.)	อุณหภูมิของอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อทุติยภูมิ (±1°C)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อขั้นที่สอง (ชั่วโมง)
กุ้งดิบแบบทั้งตัว	25 g	225 mL BPW ISO	37	18-24	R-V R10: 0.1 mL ลงใน 10 mL[n]	41.5	4-24

(a) ถ่ายโอนปริมาณ 10 µL ของตัวอย่างที่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแล้วไปยังหลอดสารละลายไลซิส โปรดดูในขั้นตอน 4.7 ในหัวข้อไลซิส

(b) ดอกกัญชาแห้ง (>0.3% THC) และดอกกัญชงแห้ง (≤0.3% THC)

(c) เตรียมที่ความเข้มข้นสองเท่า

(d) เมื่อถุงเท้าครอบรองเท้าบูทมีความเข้มข้นแคลเซียมสูง จำเป็นต้องเจือจางอาหารเหลวสำหรับเพิ่มจำนวนในอัตราส่วน 1:10 หรือ 1:100 โดยถ่ายโอน 1 มล. ลงใน BPW ISO 9 มล. (การเจือจาง 1:10) หรือ 100 µL ลงใน BPW ISO 9.9 มล. (การเจือจาง 1:100)

(e) ทำให้ชุ่มก่อนด้วย nBPW ปริมาตร 25 มล.

NF VALIDATION โดย AFNOR Certification

3M 01/16 -11/16
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
http://nf-validation.afnor.org/en

หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับการสิ้นสุดการบังคับใช้ของผลจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ โปรดอ่านเอกสารรับรองของ NF VALIDATION ที่พร้อมให้ใช้งานได้ตามเว็บไซต์ที่ระบุไว้ข้างต้น

วิธีการที่ได้รับการรับรอง NF VALIDATION สอดคล้องกับมาตรฐาน ISO 16140-2:2016[12] โดยเปรียบเทียบกับ ISO 6579:2017[3]

ขอบเขตของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ มีดังต่อไปนี้: ผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับมนุษย์ทั้งหมด ตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมด้านการผลิต (ที่รวมถึงตัวอย่างการผลิตขั้นปฐมภูมิ) อาหารสัตว์เลี้ยงและอาหารสัตว์โดยจัดทำการตรวจสอบความถูกต้องในอาหารหลากหลายชนิด

การเตรียมตัวอย่าง: ควรเตรียมตัวอย่างตาม EN ISO 6579:2017[3] และ EN ISO 6887[13]

เวอร์ชั่นซอฟต์แวร์: ดูใบรับรอง

ตารางที่ 4 ระเบียบการเพิ่มจำนวนเชื้อตาม 3M 01/16 -11/16 ที่เป็นวิธีการที่ผ่านการรับรองของ NF VALIDATION

ระเบียบการ	ขนาดตัวอย่าง	ปริมาตรอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (+1°C)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)	ปริมาตรการวิเคราะห์ตัวอย่าง (ไมโครลิตร)[n]
ระเบียบการที่ 1: • ผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปหลากหลายชนิด (ไม่รวม ผงไข่ ผักและผลไม้แปรรูป และผลิตภัณฑ์ที่ระบุไว้ในระเบียบการอื่น ๆ) • ผลิตภัณฑ์ปลาและอาหารทะเลแบบดิบทุกชนิด • อาหารสัตว์เลี้ยงและอาหารสัตว์ • การผลิตขั้นปฐมภูมิ (นอนฟีคัล)	25 g	225 mL BPW ISO	37	18 - 26	20
ระเบียบการที่ 2: • อาหารดิบและอาหารที่ไม่แปรรูปหลากหลายชนิด (ไม่รวมปลาดิบและอาหารทะเลดิบ และผลิตภัณฑ์ที่ระบุไว้ในระเบียบการอื่น ๆ) • ผงไข่ • ผักผลไม้ทุกชนิด • ตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมของการผลิตอาหาร	25 กรัม หรือการเช็ดถู 1 ครั้ง หรือการปล่อยเก็บตัวอย่าง 1 ครั้ง	อาหารเลี้ยงเชื้อ BPW ISO แบบอุณหภูมิต่ำปริมาณ 225 มล.	41.5	18 - 26	20
ระเบียบการที่ 3: • ผลิตภัณฑ์นมผง	25 g	225 mL BPW ISO	37	20 - 26	20
ระเบียบการที่ 4: • ผลิตภัณฑ์โกโก้ที่มีส่วนผสมของโกโก้มากกว่า 20%	25 g	นมยูเอชทีพร่องมันเนย + สิบริลูเลียนตกรีนที่มีความเข้มข้น 0.002% ปริมาณ 225 มล.	37	24 - 30	20
ระเบียบการที่ 5: • เครื่องเทศ สมุนไพรที่มีกลิ่นหอม น้ำผลไม้เข้มข้น ชา กาแฟ ส่วนผสมสำหรับทำอาหาร	25 g	อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 x BPW ISO ปริมาณ 235 มล. + K_2SO_3 0.5% + นม UHT พร่องมันเนยปริมาณ 240 มล.	37	24 - 30	10
ระเบียบการที่ 6: • เนื้อสัตว์ดิบ	25 g	อาหารเลี้ยงเชื้อ BPW ISO แบบอุณหภูมิต่ำปริมาณ 225 มล.	41.5	10 - 24	20
ระเบียบการที่ 7: • การผลิตขั้นปฐมภูมิ (ฟีคัล)	รองเท้าบูทสำหรับเก็บตัวอย่าง 1 ข้าง	100 mL ในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ Tetrathionate	37	22 - 24	20
	25 g	อาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ Tetrathionate 225 mL			
ระเบียบการที่ 8: • นมผงสำหรับทารก ธัญพืชสำหรับทารก ผลิตภัณฑ์นมในรูปแบบผงที่ไม่มีจุลินทรีย์ที่มีชีวิต[b]	375 กรัม	อาหารเลี้ยงเชื้อ BPW ISO แบบอุณหภูมิต่ำปริมาณ 3375 มล.	37	20 - 26	20
ระเบียบการที่ 9: • นมผงสำหรับทารก ธัญพืชสำหรับทารก ผลิตภัณฑ์นมในรูปแบบผงที่มีจุลินทรีย์ที่มีชีวิต[b]	375 กรัม	อาหารเลี้ยงเชื้อ BPW ISO แบบอุณหภูมิต่ำปริมาณ 3375 มล. + Vancomycin (10 มก.ต่อลิตร)	37	20 - 26	20

(a) ปริมาตรตัวอย่างที่นำไปใส่ไว้ในหลอดสารละลายไลซิส โปรดดูในขั้นตอน 4.7 ในหัวข้อ**ไลซิส**

(ข) สำหรับตัวอย่างนมผงและธัญพืชที่มีปริมาณมาก ค่อยๆ เติมตัวอย่างลงในของเหลวโดยคนบ่อยๆ เพื่อไม่ให้จับตัวกันเป็นก้อน

หมายเหตุ:

- ตัวอย่างที่มีปริมาณมากกว่า 25 กรัมไม่ได้นำมาทดสอบในการศึกษาของ NF VALIDATION ยกเว้นในระเบียบการที่ 8 และ 9
- ระเบียบการโดยยูอในการตรวจหาเชื้อนั้นไวต่อสภาวะของการบมเชื้อ จึงจำเป็นต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขอุณหภูมิที่ระบุไว้ในขอกำหนดทางเทคนิค ผู้ใช้ต้องตรวจสอบยืนยันว่าการอุนอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อไวลวงหนานั้นถึงระดับอุณหภูมิที่กำหนดไวก่อนทำการบมเชื้อ ระยะเวลาในการเตรียมตัวอย่าง คือ ความลาชาระหวางชวงทายของขั้นตอนการอุนอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อไวลวงหนาจนถึงชวงเริ่มต้นของขั้นตอนการบมเชื้อของตัวอย่างอาหารนั้นไม่ควรนานเกิน 45 นาที แนะนำให้ใช้ตู้บมเชื้อที่มีชองระบายอากาศสำหรับการบมเชื้อ
- **ในการถายโอนตัวอย่างจากอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ Tetrathionate (TT) ไปยังหลอดไลซิส Neogen นั้น ห้ามกวนอาหารเลี้ยงเชื้อ TT หรือปีเปตต์จากก้นหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการถายโอนตะกอนใด ๆ ที่อาจเกิดขึ้นได การถายโอนตะกอนอาจทำให้ได้ผลลัพธ์ที่ไม่ถูกต้อง**
- จุดขัดจังหวะระเบียบการที่แนะนำคือชวงภายหลังการเลี้ยงเชื้อหรือภายหลังการแยกสลายตัวอย่าง (sample lysis) อาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ หรือไลเซตตัวอย่างสามารถเก็บรักษาไวที่อุณหภูมิ 2-8°C ได้นานที่สุดเป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนำอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อออกจากที่เก็บ ให้ทำการทดสอบจากขั้นที่ 1 ในหัวข้อ**ไลซีส** หลังจากนำไลเซตตัวอย่างออกจากที่เก็บ ให้ทำการทดสอบจากขั้นที่ 8 ในหัวข้อ**ไลซีส**

การเตรียมถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen®

1. ชุบผ้าหรือกระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งในน้ำยาฟอกขาว 1-5% (ผสมกับน้ำตามอัตราส่วน) และเช็ดถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen®
2. ใช้น้ำล้างถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen นี้
3. ใช้กระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งเช็ดถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen ให้แห้ง
4. ตรวจสอบให้แน่ใจว่าถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen แห้งสนิทก่อนใช้งาน

การดำเนินการตามขั้นตอนนี้ต้องใช้Neogen Molecular Detection Heat/Chill Block Inserts จำนวน 2 ชิ้น ทั้งสองชิ้นเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดเดียวกัน (รหัสสินค้า 700000145) แต่ใช้สำหรับหน้าที่ที่แตกต่างกัน

เพื่อความชัดเจนในขั้นตอนการปฏิบัติงาน ถาดสำหรับขั้นตอนการให้ความร้อนจะเรียกว่า ถาดฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุล และถาดสำหรับขั้นตอนการทำให้เย็นจะเรียกว่า ถาดชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุล โดยการเรียกชื่อดังกล่าวใช้เพื่อแยกแยะหน้าที่การทำงานเท่านั้น และไม่ได้หมายความว่าเป็นผลิตภัณฑ์แยกจากกัน

การเตรียม Neogen Molecular Detection Chill Block Inserts

วาง Neogen Molecular Detection Chill Block Inserts บนโต๊ะปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการโดยตรง ใช้ชิลบล็อคที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (20-25°C)

การเตรียม Neogen Molecular Detection Heat Block Inserts

วาง Neogen Molecular Detection Heat Block Inserts ในเครื่องทำความร้อนบล็อกคู่แบบแห้ง เปิดเครื่องทำความร้อนบล็อคแบบแห้งและตั้งอุณหภูมิเพื่อให้ Neogen Molecular Detection Heat Block Inserts มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึง 100 ± 1°C

หมายเหตุ: Neogen Molecular Detection Heat Block Inserts มีอุณหภูมิตามที่กำหนดโดยทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการทำงานของเครื่องทำความรอน ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่ได้รับการสอบเทียบอยางเหมาะสม (เชน เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วน เทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิตอล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอรแบบจุ่มทั้งหมด) วางไว้ในบริเวณที่กำหนด ตรวจสอบให้อุณหภูมิของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล ของ Neogen อยู่ที่ 100 ± 1°C

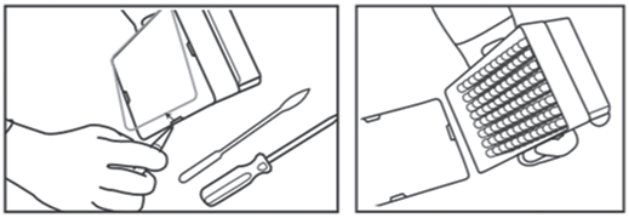
การเตรียมเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen®

1. เริ่มต้นการใช้งานซอฟต์แวร์สำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen® แล้วลงชื่อเข้าสู่ระบบ ติดต่อตัวแทนของ Neogen Food Safety ของคุณเพื่อให้แน่ใจว่าคุณมีซอฟต์แวร์เวอร์ชันที่อัปเดตล่าสุด
2. เปิดเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen
3. สร้างหรือแก้ไขชุดการทดสอบที่มีข้อมูลสำหรับแต่ละตัวอย่าง ดูรายละเอียดเพิ่มเติมในคู่มือการใช้งานระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen

หมายเหตุ: ต้องรอให้เครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen มีสถานะพร้อมใช้ ก่อนที่จะใส่ถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลของ Neogen ขั้นตอนของการทำความร้อนนี้ใช้เวลาประมาณ 20 นาทีและบงชี้ด้วยไฟสีส้มบนแถบบอกสถานะของเครื่อง เมื่อเครื่องมือพร้อมที่จะเริ่มต้นการทำงาน แถบบอกสถานะดังกล่าวจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว

ไลซีส

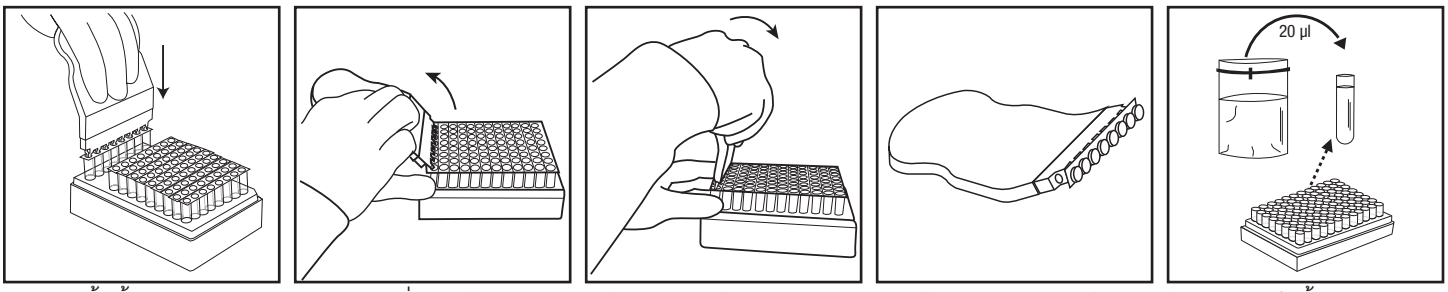
ใช้ไขควงไขหรือไม้พายถอดด้านล่างของที่วางสารละลายไลซิส Neogen ออก ก่อนวางลงบนฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลของ Neogen



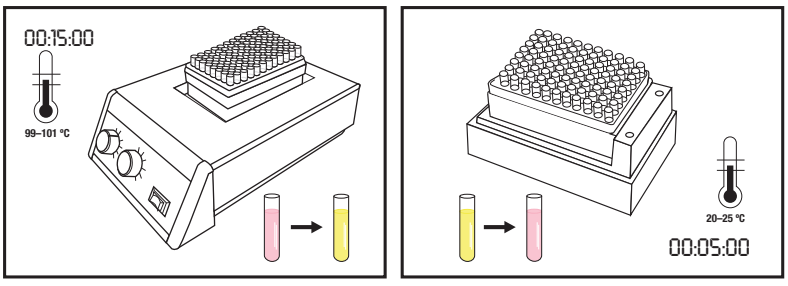
1. ปล่อยให้หลอดสารละลายย่อยสลายเซลล์ของ Neogen อุ่นขึ้นโดยวางชั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (20-25 °C) ข้ามคืน (16-18 ชั่วโมง) ทางเลือกอื่น ๆ ในการปรับสมดุลหลอดสารละลายย่อยสลายเซลล์ของ Neogen ให้อยู่ที่อุณหภูมิห้องคือการวางหลอดหลอดสารละลายย่อยสลายเซลล์ของ Neogen ไว้บนโต๊ะปฏิบัติการเป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง บ่มหลอดหลอดสารละลายย่อยสลายเซลล์ของ Neogen ในตู้บ่มเพาะเชื้อที่มีอุณหภูมิ 37 ± 1 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือวางไว้ในเครื่องทำความร้อนแบบบล็อกคู่แห้งเป็นเวลา 30 วินาทีที่อุณหภูมิ 100 °C
2. พลิกกลับหลอดที่ปิดฝาแล้วเพื่อผสม ดำเนินการขั้นตอนถัดไปภายใน 4 ชั่วโมงหลังจากพลิกกลับ
3. นำตัวอย่างที่ผ่านการเพิ่มจำนวนเชื้อออกจากตู้บ่ม
4. ต้องใช้สารละลายย่อยสลายเซลล์ของ Neogen หนึ่งหลอดสำหรับแต่ละตัวอย่างและตัวอย่างที่เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative Control หรือ NC) (อาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ)
   4.1 แถวของหลอดสารละลายไลซีส Neogen สามารถตัดออกเพื่อให้มีจำนวนหลอดสารละลายไลซีส Neogen ตามที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอดสารละลายไลซีส Neogen แต่ละหลอดหรือแถวที่มี 8 หลอด ตามความจำเป็น วางหลอดสารละลายไลซีส Neogen ลงในที่วางที่ว่างอยู่
   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 กรณีทำการเก็บตัวอย่างที่มีลักษณะเหนียวหนืด ให้เขย่าถุงอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อก่อนเก็บตัวอย่างจากส่วนด้านข้างที่ผ่านการกรอง
   4.7 ถ่ายโอนตัวอย่างในปริมาณ 20 µL ไปยังหลอดสารละลายไลซิส Neogen เว้นแต่ระบุไว้เป็นอย่างอื่นในตารางแสดงระเบียบการ (ระเบียบการตัวอย่างที่ 5 และอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อทุติยภูมิใน RVS หรือ กรณีการใช้ตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมที่มีบัฟเฟอร์ที่เป็นกลาง)



5. ทำซ้ำขั้นตอน 4.4 ถึง 4.7 จนกระทั่งเติมตัวอย่างแต่ละตัวอย่างลงในหลอดสารละลายไลซีส Neogen ในแถวดังกล่าวเสร็จสิ้น
6. เมื่อถ่ายตัวอย่างทั้งหมดเสร็จแล้ว ให้ถ่าย NC (อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อที่ปลอดเชื้อ เช่น BPW) ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดสารละลายไลซีส Neogen ห้ามใช้น้ำเป็น NC
7. ตรวจสอบว่าอุณหภูมิของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen อยู่ที่ 100 ± 1°C
8. ขั้นตอนการให้ความร้อน: วางถาดใส่หลอดสารละลายไลซีส Neogen ที่ไม่มีฝาปิด ลงในฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล ของี Neogen และทำความร้อนเป็นเวลา 15 ± 1 นาที ระหว่างการทำให้ร้อน สารละลายในหลอดทดสอบไลซีส Neogen จะเปลี่ยนจากสีชมพู (เย็น) เป็นเหลือง (ร้อน)
   8.1. ตัวอย่างซึ่งไม่ได้รับความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการไลซีสของชุดทดสอบอาจถือว่าเป็นสารที่อาจมีอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของี Neogen
9. ขั้นตอนการทำให้เย็น: นำที่วางหลอดสารละลายไลซีส Neogen ที่ไม่ได้ปิดฝาออกจากฮีทบล็อคและปล่อยให้เย็นลงในชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล ของี Neogen อย่างน้อย 5 นาทีแต่ไม่เกิน 10 นาที การใช้งานชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล ของี Neogen ให้วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยควรวางลงบนโต๊ะปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการโดยตรง ในระหว่างการทำให้เย็น สารละลายย่อยสลายเซลล์ของ Neogen จะเปลี่ยนกลับเป็นสีชมพู
10. นำที่วางหลอดสารละลายไลซีส Neogen ออกจากชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล ของี Neogen

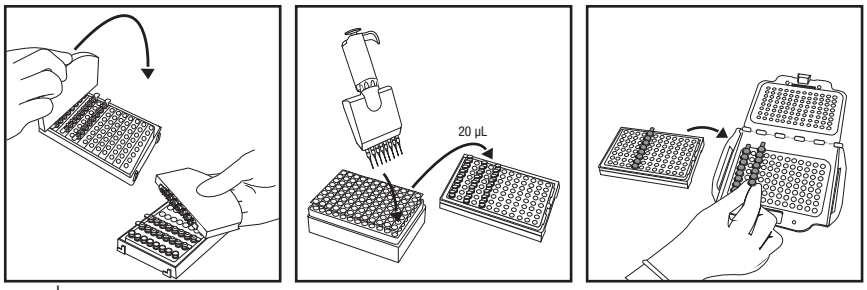


การเพิ่มขยาย

1. หลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี Neogen หนึ่งหลอดสำหรับตัวอย่างแต่ละชนิดและ NC
   1.1 สามารถตัดแถวของหลอดออก เพื่อให้มีจำนวนหลอดตามที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen แต่ละหลอด หรือแถวที่มี 8 หลอด ตามต้องการ
   1.2 วางหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาของ Neogen ในชั้นวางเปล่า
   1.3 หลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดรีเอเจนต์ที่ก้นหลอด
2. เลือกหลอดรีเอเจนต์คอนโทรลหนึ่งหลอดแล้ววางลงในที่วาง
3. เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม ให้เปิดฝาของหลอดรีเอเจนท์หนึ่งแถวในแต่ละครั้งและใช้ปิเปตทิปอันใหม่สำหรับถ่ายตัวอย่างในแต่ละขั้นตอน
4. ดูดจ่ายสารแต่ละสารจากการย่อยสลายเซลล์ใส่ลงในหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาในชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุล 2 - ซาลโมเนลลา หนึ่งหลอด และหลอดตัวควบคุมดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาของ Neogen อีกหนึ่งหลอด ตามที่อธิบายไว้ด้านล่าง:

   ถ่ายโอนไลเซตแต่ละตัวอย่างไปไว้ในหลอดรีเอเจนท์แต่ละหลอดก่อนเป็น **อันดับแรก** ตามด้วยชุดควบคุม (NC) เติมสารละลายลงในหลอด Neogen รีเอเจนท์คอนโทรลเป็น **ลำดับสุดท้าย**

5. ใช้เครื่องมือเปิด/ปิดฝารีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของี Neogen® ในการเปิดหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen ทีละแถว ทิ้งฝาปิด
   5.1 **ถ่ายไลเซตของตัวอย่างปริมาณ 20 ไมโครลิตร จากด้านบน 1/2 ของของเหลว (หลีกเลี่ยงตะกอน) ในหลอดสารละลายไลซิส Neogen เข้าไปในหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบ เชื้อ*ซาลโมเนลล่า*ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี Neogen ปล่อยสารละลายด้านข้างหลอด เพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดรีเอเจนต์ที่ก้นหลอด ผสมโดยใช้ปิเปต ดูดขึ้นและลงเบา ๆ 5 ครั้ง**
   5.2 ทำซ้ำขั้นตอนที่ 5.1 จนกว่าจะเติมแต่ละไลเซตตัวอย่างลงไปในหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen ในแถวนั้น
   5.3 ปิดหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen ด้วยฝาอีกอันที่ให้มา และใช้ด้านมนของเครื่องมือเปิด/ปิดฝาหลอดทดสอบ ของี 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 เข้าไปในหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของี Neogen
   5.6 ถ่าย**ไลเซต NC ปริมาณ 20 ไมโครลิตร เข้าไปในหลอด Neogen รีเอเจนท์คอนโทรล** ปล่อยสารละลายด้านข้างหลอด เพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดรีเอเจนต์ที่ก้นหลอด ผสมโดยใช้ปิเปต ดูดขึ้นและลงเบา ๆ 5 ครั้ง
6. บรรจุหลอดที่ปิดฝาแล้วลงในถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลของี Neogen ที่สะอาดและขจัดการปนเปื้อนแล้ว ปิดและล็อคฝาถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลของี Neogen



7. ตรวจสอบและยืนยันการรันที่กำหนดค่าไว้ในซอฟต์แวร์ระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen
8. คลิกปุ่ม Start ในซอฟต์แวร์ แล้วเลือกเครื่องมือที่จะใช้ ฝาปิดของอุปกรณ์ที่เลือกจะเปิดโดยอัตโนมัติ
9. ใส่ถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลของี Neogen ในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของี Neogen แล้วปิดฝาเพื่อเริ่มต้นการทดสอบ ระบบจะให้ผลการทดสอบภายในเวลา 60 นาที แม้ว่าผลที่เป็นบวกอาจจะตรวจจับได้เร็วกว่านั้นก็ตาม
10. หลังจากการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว ให้นำถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลของี Neogen ออกจากเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลของี Neogen แล้วกำจัดหลอดเหล่านั้นทิ้งโดยแช่ในน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ในน้ำที่มีปริมาตรเท่ากัน) นาน 1 ชั่วโมง และปฏิบัติให้ห่างจากพื้นที่จัดเตรียมชุดทดสอบ

ข้อสังเกต: เพื่อลดความเสี่ยงในการได้ผลบวกปลอมอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนข้าม ห้ามเปิดหลอดรีเอเจนต์ซึ่งบรรจุ DNA ที่เพิ่มขยายแล้ว ซึ่งรวมถึงหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลลาระดับโมเลกุล 2 ของ Neogen, หลอด Neogen รีเอเจนท์คอนโทรล และหลอดเมทริกซ์คอนโทรล Neogen กำจัดทิ้งหลอดรีเอเจนต์ที่ปิดฝาแล้วทุกครั้งโดยลางในสารซักฟอกในครัวเรือนความเข้มข้น 1-5% (ต่อปริมาตร) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และห่างจากบริเวณเตรียมการทดสอบ

ผลการทดสอบและการแปลความหมาย

อัลกอริธึมจะแปลความหมายเส้นโค้งของแสงที่ส่งออกมาอันเป็นผลมาจากการตรวจพบการเพิ่มขยายของกรดนิวคลีอิก ซอฟต์แวร์จะวิเคราะห์ผลการทดสอบนี้โดยอัตโนมัติและจะมีการเข้ารหัสสีตามผลที่ได้ดังกล่าว ผลการทดสอบที่ให้ค่าเป็นบวกหรือลบจะพิจารณาตัดสินโดยการวิเคราะห์พารามิเตอร์ของเส้นโค้งที่มีลักษณะเฉพาะตัวจำนวนหนึ่ง ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกจะได้รับการรายงานในทันที ขณะที่ผลการทดสอบที่เป็นลบและผลที่น่าสงสัยจะแสดงผลภายหลังการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว

ตัวอย่างที่สันนิษฐานว่าเป็นบวกควรได้รับการยืนยันตามขั้นตอนการปฏิบัติการตามมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ หรือโดยปฏิบัติตามการยืนยันวิธีการอ้างอิงที่เหมาะสม[1,2,3] ที่เริ่มต้นด้วยการถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อ ปฐมภูมิไปยังอาหารเหลวทุติยภูมิตามด้วยการเลี้ยงเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อและการยืนยันการแยกเชื้อโดยใช้วิธีการทางชีวเคมีและและเซรุ่มวิทยาที่เหมาะสม

หมายเหตุ: ตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบค่าแสงที่อ่านได้ก็ไม่ได้มีค่าเป็นศูนย์ เนื่องจากระบบและรีเอเจนต์ในการเพิ่มขยายสำหรับชุดทดสอบเชื้อ*ซาลโมเนลลา*ระดับโมเลกุล 2 ของ Neogen จะมี"ค่าพื้นหลัง" ในหน่วยแสงสัมพัทธ (RLU)

ในบางครั้งอาจพบว่าแสงที่ได้จากปฏิกิริยานั้นมีลักษณะผิดปกติ อัลกอริธึมดังกล่าวจะถูกตีความออกมาว่าเป็น “ผลที่น่าสงสัย” บริษัท Neogen แนะนำให้ผู้ใช้ทำการทดสอบนี้ซ้ำสำหรับตัวอย่างที่ให้ผลที่น่าสงสัย หากผลการทดสอบยังคงเป็นที่น่าสงสัย ให้ทำการทดสอบเพื่อยืนยัน โดยใช้วิธีการตามที่ต้องการหรือตามที่ระบุโดยหน่วยงานกฎระเบียบในประเทศ

ตารางที่ 5. สัญลักษณ์และข้อมูลสำหรับผลลัพธ์ต่างๆ ของซอฟต์แวร์

ประเภทของหลุมทดสอบ	สัญลักษณ์ผลการตรวจที่ได้จากหลุมทดสอบ	ผลการตรวจ	การแปลผลการตรวจวิเคราะห์
ตัวอย่าง		บวก	ตัวอย่างนี้ในเบื้องต้นให้ผลเป็นบวกสำหรับเชื้อก่อโรคเป้าหมาย
ตัวอย่าง		ลบ	ตัวอย่างนี้ให้ผลเป็นลบสำหรับเชื้อก่อโรคเป้าหมาย
ตัวอย่าง		ถูกยับยั้ง	เมทริกซ์ตัวอย่างนี้มีลักษณะยับยั้งต่อการตรวจวิเคราะห์ อาจจำเป็นต้องทำการทดสอบซ้ำ
ตัวอย่าง		ตรวจสอบ	มีความคลุมเครือไม่แน่ชัดเกี่ยวกับการมีอยู่หรือไม่มีอยู่ของเชื้อก่อโรคเป้าหมาย อาจจำเป็นต้องทำการทดสอบซ้ำ
ตัวอย่าง		ข้อผิดพลาด	ไม่ตรวจพบการเรืองแสงทางชีวภาพ อาจจำเป็นต้องทำการทดสอบซ้ำ

*โปรดดูรายละเอียดเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลลัพธ์ในรายงานผลการทดสอบ หากจำเป็น สามารถติดต่อขอรับความช่วยเหลือในการแก้ไขปัญหาได้จากตัวแทนจำหน่ายของ Neogen ในพื้นที่ของคุณ

การตรวจสอบยืนยันผลการทดสอบตามวิธีที่ได้รับการรับรองของ NF VALIDATION

ในบริบทของ NF VALIDATION ตัวอย่างทั้งหมดที่ระบุไว้ว่ามีผลเป็นบวกในการทดสอบด้วยชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี Neogen ต้องได้รับการยืนยันจากหนึ่งในการทดสอบต่อไปนี้:

ตัวเลือกที่ 1: การใช้มาตรฐาน ISO 6579[3] ที่เริ่มต้นตั้งแต่การใช้อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อบัฟเฟอร์เปปโตนวอร์เตอร์[3]

ตัวเลือกที่ 2: การใช้วิธีการยืนยันที่ประกอบด้วยวิธีการต่อไปนี้: ถ่ายโอนปริมาณ 0.1 mL ของอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อ BPW ISO[3] หรืออาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ Tetra Thionate (ตัวอย่างการผลิตขั้นปฐมภูมิ) ไปไว้ในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ RVS ที่มีปริมาณ 10 mL บ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 24 ± 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 41.5°C ขีดเชื้อลงไปบนวุ้น Xylose Lysine Deoxycholate (XLD)[3] หรือลงไปบนวุ้น Chromogenic Agar ที่ใช้จำเพาะกับ เชื้อซาลโมเนลล่า ดำเนินการด้วยเทคนิค Latex Agglutination โดยใช้ชุดทดสอบ Oxoid *Salmonella* LatexTest แบบโดยตรงบนโคโลนีที่แยกเชื้อ

ตัวเลือกที่ 3: การใช้โพรบชนิดกรดนิวคลีอิกตามที่อธิบายไว้ในมาตรฐาน EN ISO 7218:2024[5] ซึ่งดำเนินการกับโคโลนีที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD หรือ chromogenic agar (ดูตัวเลือกที่ 1 หรือ 2) ต้องไม่ทำการทดสอบนี้ด้วยการใช้ชุดทดสอบ เชื้อ*ซาลโมเนลล่า*ระดับโมเลกุล 2 ของ Neogen

ตัวเลือกที่ 4: สำหรับการใช้วิธีการอื่นใดที่ได้รับการรับรองจาก NF VALIDATION หลักการของวิธีการทดสอบจะต้องแตกต่างจากหลักการของชุดทดสอบ เชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของ Neogen จะต้องใช้ระเบียบการแบบครบถ้วนสมบูรณ์ที่อธิบายไว้สำหรับวิธีการที่สองที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้นี้ ขั้นตอนทั้งหมดก่อนการเริ่มต้นการยืนยันจะต้องเหมือนกันกับทั้งสองวิธีการ

กรณีผลการทดสอบไม่สอดคล้อง (ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกด้วยการใช้ชุดทดสอบเชื้อซาลโมเนลล่าระดับโมเลกุล 2 ของ Neogen ที่ยังไม่ได้รับการยืนยันจากหนึ่งในเครื่องมือที่อธิบายไว้ข้างต้นและโดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการทดสอบ Latex Agglutination) ห้องปฏิบัติการจะต้องปฏิบัติตามขั้นตอนที่จำเป็นเพื่อตรวจสอบว่าผลการทดสอบที่ได้รับถูกต้อง

หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการใช้งานหรือกรรมวิธีที่เฉพาะเจาะจงใดๆ โปรดเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราที่ www.neogen.com หรือติดต่อตัวแทนจำหน่ายหรือผู้จัดจำหน่ายของบริษัท Neogen ในท้องถิ่นของท่าน

ภาคผนวก A การหยุดการทดสอบชั่วคราว: การเก็บรักษาและการนำไลเซตมาทดสอบซ้ำ

1. หากต้องการเก็บไลเซตที่ผ่านความร้อนมาแล้ว ให้ปิดฝาหลอดสารละลายไลซิสด้วยฝาที่สะอาด (โปรดดู**ไลซิส** ในข้อ 4.5)
2. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ถึง 8°C ไม่เกิน 72 ชั่วโมง
3. เตรียมตัวอย่างที่เก็บไว้ โดยพลิกหลอดสารละลายไลซิสไปมา 2-3 ครั้งเพื่อผสมตัวอย่างให้เข้ากัน
4. เปิดฝาหลอด
5. ใส่หลอดไลเซตที่ผสมตัวอย่างเข้ากันแล้วลงในฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล ของ Neogen และให้ความร้อนที่ 100 ± 1°C เป็นเวลา 5 ± 1 นาที
6. นำที่วางหลอดสารละลายไลซิส Neogen ออกจากฮีทบล็อคและปล่อยให้เย็นในชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen อย่างน้อย 5 นาทีแต่ไม่เกิน 10 นาที
7. ดำเนินการทดสอบขั้นต่อไปในส่วน **การเพิ่มจำนวนเชื้อ** ตามรายละเอียดด้านล่าง

เอกสารอ้างอิง:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.10. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and siluriformes (fish) products and carcass and environmental sponges. Effective Date: 2 January 2019.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
7. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
8. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
9. 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.
10. ISO 18593:2018. Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling.
11. US Food and Drug Administration – *Bacteriological Analytical Manual*, Medium M111: Nonfat Dry Milk (Reconstituted). January 2011.
12. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain - part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
13. ISO 6887 (all parts). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
14. Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimmings and Bench Trim | Food Safety and Inspection Service https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-notice/05-23
15. USDA/FSIS Letter of No Objection (NOL) for the MicroTally® Mitt food surface sampler. https://microtally.com/wp-content/uploads/2025/01/Poultry-Mitt-NOL.pdf

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 2026. All rights reserved.
Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
All other trademarks are the property of their respective companies.

© 2026, Neogen. Tous droits réservés.
Neogen est une marque de commerce de Neogen.
Toutes les autres marques de
commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.
FS00869B

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

발행일: 2026-02

NEOGEN®

제품 설명서

Neogen® Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라

제품 설명 및 용도

Neogen® Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라는 증균된 식품, 사료, 식품 제조 환경 시료에서 살모넬라를 신속하고 특이적으로 검출하기 위해 Neogen® Molecular Detection System과 함께 사용됩니다.

Neogen® Molecular Detection Assay는 Loop-mediated isothermal amplification(LAMP) 방법을 사용하여 높은 특이도와 민감도로 핵산 염기서열을 신속하게 증폭하고, 생물발광 방식으로 증폭 여부를 검출합니다. 추정 양성 결과는 실시간으로 기록되고, 음성 결과는 시험이 완료된 후 표시됩니다. 추정 양성 결과는 작업자의 선호 방식 또는 현지 규정에 명시된 방법을 사용하여 확인시험을 수행해야 합니다[1, 2, 3].

Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라는 실험 기법에 대해 적절한 교육을 받은 전문가들이 실험실 환경에서 사용하도록 고안되었습니다. Neogen은 본 제품의 사용을 식품 혹은 음료 산업 이외의 분야에 대해서는 입증하지 않았습니다. 구체적으로, Neogen은 본 제품을 의약품, 화장품, 임상 혹은 수의학 시료 시험용으로 입증하지 않았습니다. Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라는 모든 식품, 식품 제조 공정, 시험 프로토콜 혹은 모든 세균 균주에 대해 평가된 것은 아닙니다.

모든 시험법과 마찬가지로, 증균배지의 공급원, 조성 및 품질은 시험 결과에 영향을 미칠 수 있습니다. 또한 시료 채취 방법, 시험 절차, 시료 준비, 취급 방법 및 실험 숙련도와 같은 요소들도 결과에 영향을 줄 수 있습니다. Neogen은 사용 환경에서 충분한 수의 시료와 특정 식품 및 미생물 조건을 이용하여 증균배지를 포함한 본 시험법의 성능을 평가함으로써, 해당 방법이 사용자의 요구 기준을 충족하는지 확인할 것을 권장합니다.

Neogen은 Buffered Peptone Water(BPW) ISO를 증균 배지로 사용하여 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라를 평가했습니다.

Neogen® Molecular Detection 장비는 시료에 있는 미생물을 용해하기 위한 Lysis 단계 중에 열처리를 거친 시료와 함께 사용하기 위한 것입니다. Lysis 단계 동안 적절한 열처리가 되지 않은 시료는 잠재적 생물학적 위험 요소로 간주되므로 Neogen Molecular Detection 장비에 절대로 삽입하지 마십시오.

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

Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 시험 키트에는 표 1에 설명된 바와 같이 96회 시험분이 포함되어 있습니다.

표 1. Neogen Molecular Detection Assay 키트 구성요소

항목	외형 식별	수량	구성	설명
Neogen® Lysis Solution(LS)	투명한 튜브에 담긴 분홍색 용액	96개 (8연 튜브 스트립 12개)	각 튜브당 Lysis Solution 580µL 함유	랙에 보관된 형태로 즉시 사용 가능
Neogen® Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 Reagent 튜브	녹색 튜브	96개 (8연 튜브 스트립 12개)	증폭 및 검출을 위한 동결 건조 시약 혼합물	즉시 사용 가능
여분 캡	녹색 캡	96개 (8연 캡 스트립 12개)		즉시 사용 가능
Neogen® Reagent Control(RC, 양성 대조군)	투명 플립톱 튜브	16개 (개별 튜브 8개 파우치 2개)	증폭 및 검출을 위한 대조군 DNA를 포함한 동결 건조 시약 혼합물	즉시 사용 가능

키트에 제공되지 않은 음성 대조군(Negative Control, NC)은 멸균 증균 배지(예: BPW ISO)입니다. 물을 음성 대조군으로 사용하지 마십시오.

안전

사용자는 Neogen Molecular Detection System 및 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라와 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 Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라를 사용해서는 안 됩니다.

사용자는 시험 담당 인력이 적절한 시험 기법에 대해 교육을 받도록 해야 합니다. 예를 들어, Good Laboratory Practices[4], ISO 7218:2024[5] 또는 CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)[6] 등이 해당됩니다.

오염된 제품의 출고를 초래하는 위음성 결과와 관련된 위험을 줄이려면:

- 프로토콜을 준수하고 제품 설명서에 명시된 대로 정확하게 시험을 수행하십시오.
- Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라를 포장 및 제품 사용설명서에 명시된 조건에 따라 보관하십시오.
- Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라는 반드시 유효기간 이내에 사용하십시오.
- Neogen Molecular Detection Assay 2 - 내부 또는 제3자 검증이 완료된 식품, 사료 및 식품 제조 환경 시료에 사용하십시오.
- Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라에는 내부 또는 제3자 검증이 완료된 환경 표면, 살균제, 시험 절차 및 세균 균주에만 사용하십시오.
- 아릴 설포네이트 화합물(aryl sulfonate complex)이 포함된 중화 버퍼(Neutralizing Buffer)를 사용하는 환경 시료의 경우, 시험하기 전에 1:2로 희석하십시오(시료를 동량의 멸균 증균 배지에 넣음, 시료1+멸균 증균 배지1). 다른 방법으로는 중화 버퍼 증균액 10µL를 Neogen Lysis Solution 튜브에 직접 분주할 수도 있습니다.
  아릴 설포네이트 화합물이 포함된 Neutralizing Buffer를 사용하는 Neogen의 시료 취급 제품은 다음과 같습니다: 700002040 | RS96010NB, 700002011 | RS9604NB 700002003 | SSL10NB, 700002004 | SSL10NB2G, 700002213 | HS10NB, 700002002 | HS10NB2G.

화학물질 및 생물학적 위해요인에 대한 노출 위험을 줄이기 위해 다음 사항을 준수하십시오.

- 병원성 미생물 시험은 적절한 장비를 갖춘 실험실에서, 교육받은 전문 인력의 관리하에 수행하십시오. 배양된 증균 배지 및 해당 증균 배지와 접촉한 장비 또는 표면에는 인체 건강에 위해를 줄 수 있는 수준의 병원성 미생물이 존재할 수 있습니다.
- 시약 및 오염된 시료를 취급할 때에는 적절한 보호복 및 보안경 착용을 포함한 표준 실험실 안전수칙을 항상 준수하십시오.
- 증폭 이후에는 증균 배지 및 Reagent 튜브의 내용물과의 접촉을 피하십시오.
- 증균된 시료는 해당 지역 및 국가 규정에 따라 폐기하십시오.
- Lysis 단계 동안 적절한 열처리가 되지 않은 시료는 잠재적 생물학적 위험 요소로 간주되므로 Neogen Molecular Detection 장비에 절대로 삽입하지 마십시오.

시험 준비 과정에서 교차오염의 위험을 줄이기 위해 다음 사항을 준수하십시오:

- 사용자 보호 및 뉴클레아제(nuclease) 오염 방지를 위해 항상 장갑을 착용하십시오.

환경 오염의 위험을 줄이기 위해 다음 사항을 준수하십시오:

- 폐기물 처리와 관련된 해당 지역 및 국가 규정을 준수하십시오.

고온의 액체 노출로 인한 위험을 줄이기 위해 다음 사항을 준수하십시오.

- 권장 가열 온도를 초과하지 마십시오.
- 권장 가열 시간을 초과하지 마십시오.
- Neogen Molecular Detection 히팅 블록 인서트의 온도를 확인하기 위해 적절하게 교정된 온도계를 사용하십시오(예: 부분 침지형 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 완전 침지형 온도계는 사용하지 마십시오). 온도계는 반드시 Neogen Molecular Detection 히팅 블록 인서트의 지정된 장소에 배치해야 합니다.

주의

시험 준비 과정에서 교차오염의 위험을 줄이기 위해 다음 사항을 준수하십시오:

- 동결 건조된 시약 펠렛을 수화하기 전에 장갑을 교체하십시오.
- 멸균된 미세입자 차단형(필터형) 분자생물학용 피펫 팁의 사용을 권장합니다.
- 각 시료를 분주할 때마다 새로운 피펫 팁을 사용하십시오.
- 증균액에서 Lysis 튜브로 시료를 옮길 때, 우수실험실운영기준(Good Laboratory Practices, GLP)을 준수하십시오. 피펫 오염을 방지하기위해 중간 분주 단계를 추가해야 할 수도 있습니다. 예를 들어, 각 증균 시료를 멸균 튜브로 먼저 옮긴 후 사용하십시오.
- 가능한 경우 살균램프(germicidal lamp)가 장착된 분자생물학 작업대를 사용하십시오. 또한 실험대 및 장비(피펫, 캡/디캡 툴, 시약 튜브 랙 등)는 1–5%(v:v, 물) 가정용 표백제 용액 또는 DNA 제거 용액으로 주기적으로 오염을 제거하십시오.

위양성 결과 발생 위험을 줄이기 위해 다음 사항을 준수하십시오:

- 증폭 후에는 Reagent 튜브를 절대 열지 마십시오.
- 오염된 튜브는 시험 준비 구역과 분리된 장소에서 1–5%(v:v, 물 기준) 가정용 표백제 용액에 1시간 동안 침지한 후 폐기하십시오.
- 증폭 이후의 Reagent 튜브는 절대 오토클레이브 처리하지 마십시오.

폐기에 대한 추가 정보 및 현지 규정은 안전보건자료(SDS)를 참조하십시오.

구체적인 용도나 절차에 대하여 궁금한 점이 있으면 당사 웹사이트(www.neogen.com)를 방문하거나 현지 Neogen 또는 판매업체로 문의하십시오.

사용자의 책임

사용자는 제품 사용설명서 및 관련 정보를 숙지할 책임이 있습니다. 보다 자세한 정보는 당사의 웹사이트 **www.neogen.com**를 참고하거나 현지 Neogen이나 영업 대리점으로 문의하십시오.

시험 방법을 선택할 때, 시료 채취 방법, 시험 절차, 시료 준비, 취급 방법, 실험 숙련도 및 시료 자체와 같은 외부 요인이 결과에 영향을 미칠 수 있음을 인지해야 합니다.

사용자는 적절한 매트릭스 및 미생물 조건에서 충분한 수의 시료를 평가함으로써, 선택한 시험 방법이 사용자의 기준에 적합함을 확인할 책임이 있습니다.

또한 모든 시험 방법 및 결과가 고객 및 공급업체의 요구사항을 충족하는지 확인하는 것 역시 사용자의 책임입니다.

모든 시험 방법과 마찬가지로, Neogen Food Safety 제품을 사용하여 얻은 결과는 시험된 매트릭스 또는 공정의 품질을 보증하는 것은 아닙니다.

사용자가 방법 도입 시 해당 시험법의 목적 적합성을 평가할 수 있도록, Neogen은 Neogen Molecular Detection Matrix Control 키트(International Organization for Standardization ISO 24914:2026[7]에서는 amplification control이라고도 함)를 개발하였습니다. Matrix Control을 사용하여 유효성 확인 및 검증 과정에서 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 결과에 미치는 매트릭스 간섭을 평가하십시오. 시험법 성능을 검증하고 실험실 내 적용 범위를 정의할 때 필요한 대표성 있는 시료 수를 결정하기 위해 ISO 16140-3:2021[8] 표준 및/또는 조직의 품질보증 프로그램을 따르십시오. 시험법이 검증되고 실험실의 적용 범위가 확립되면 Neogen Molecular Detection Matrix Control의 정기적인 사용은 필요하지 않습니다. 일상 시험 중 Neogen Molecular Detection Matrix Control의 필요 여부 및 사용 빈도는 해당 기관의 품질보증 프로그램에 따라 사례별로 결정하십시오.

매트릭스(matrix)는 조성 및 제조 공정과 같은 고유 특성을 가진 제품 유형으로 정의할 수 있습니다. 예를 들어, 매트릭스 간의 차이는 원료(raw)와 저온살균(pasteurized), 신선(fresh) 제품과 건조(dried) 제품 간의 차이와 같이 가공 방식 또는 제품 형태의 차이로 인해 발생할 수 있습니다.

보증의 제한/제한적 구제

개별 제품 포장의 제한적 보증 조항에 명시된 경우를 제외하고, Neogen은 상품성 또는 특정 용도 적합성에 대한 보증을 포함한 일체의 명시적 또는 암묵적인 보증 책임을 배제합니다. Neogen Food Safety 제품에 결함이 있을 경우, Neogen이나 그의 공식 판매업체는 자체 판단에 따라 제품을 교체하거나 구매 금액을 환불할 수 있습니다. 이는 사용자가 받을 수 있는 유일한 구제 방법입니다. 제품의 결함이 의심되는 경우, 이를 발견한 날로부터 60일 이내에 즉시 Neogen에 통지하고 해당 제품을 반품해야 합니다. 추가 질문이 있을 경우, Neogen 담당자 또는Neogen 공인 대리점에 문의하시기 바랍니다.

Neogen 책임의 제한

Neogen은 이익 손실을 포함하여 어떤 직접적인, 간접적인, 특별한, 부수적인, 결과적인 손해나 손실에 대해서도 책임지지 않습니다. 법 어떠한 법적 근거에 의하더라도, Neogen의 책임 범위는 결함이 있다고 주장되는 해당 제품의 구매 금액을 초과하지 않습니다.

Neogen의 전체 약관을 확인하려면 다음 페이지를 방문하십시오. https://www.neogen.com/en/terms-and-conditions/

보관 및 폐기

Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라를 2~8°C에서 보관하십시오. 냉동하지 마십시오. 보관 중에는 키트를 빛으로부터 차단하십시오. 키트 개봉 후에는 호일 파우치의 손상 여부를 확인하십시오. 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 60일 동안 2~8°C에서 보관하십시오.

유효 기간이 지난 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라는 사용하지 마십시오. 유효기한과 제조 번호는 상자의 외부 라벨에 기입되어 있습니다. 사용하고 난 증균 배지와 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 튜브에는 잠재적으로 병원성 물질이 들어 있을 수 있습니다. 시험이 완료되면 오염 폐기물의 처리에 관한 해당 지역 및 국가 규정을 준수하십시오. 폐기에 대한 추가 정보 및 현지 규정은 안전보건자료(SDS)를 참조하십시오.

사용 지침

모든 지침을 주의 깊게 준수하십시오. 그렇지 않으면 부정확한 결과가 발생할 수 있습니다.

실험대 및 장비(피펫, 캡/디캡 툴, Reagent 튜브 랙 등)는 1–5%(v:v, 물 기준) 가정용 표백제 용액 또는 DNA 제거 용액으로 주기적으로 오염을 제거하십시오.

사용자는 "설치 적격성 평가(IQ)/작동 적격성 평가 프로토콜 및 Neogen Molecular Detection System 지침" 문서[6]에 명시된 대로 Neogen Molecular Detection System 작업자 적격성 평가(OQ) 교육을 이수해야 합니다.[9]

특정 요건에 관해서는 "유효성 검증 방법 관련 상세 설명" 섹션을 참조하십시오:

표 3. AOAC® *Official Method of Analysis℠* **2016.01** 및 AOAC® *Performance Tested℠* 인증서 **#091501**에 따른 증균 프로트콜.

표 4. NF VALIDATION 인증서 **3M 01/16-11/16**에 따른 증균 프로토콜.

시료 증균

표 2, 3 및 4는 식품, 사료 및 환경 시료를 대한 일반적인 증균 프로토콜 가이드를 제공합니다.

대체 시료 채취 방법 또는 희석 비율을 적용하는 경우, 해당 시험 방법이 사용자의 기준을 충족하는지 검증하는 책임은 사용자에게 있습니다.

식품

1. BPW ISO 증균 배지를 시험할 매트릭스에 따라 주변 실험실 온도 또는 41.5±1°C로 온도 평형을 맞춥니다. 표 2, 3 또는 4 참조.
2. 증균 배지와 시료를 무균적으로 혼합하십시오.

3. 블렌딩(blending), 스토마킹(stomaching) 또는 수동 혼합(hand mixing) 방식을 사용하여 2±0.2분 동안 또는 모든 응집물이 완전히 용해되고 증균 현탁액이 균질해질 때까지 충분히 균질화하십시오[13].
   a. 모든 육류 및 입자가 매우 미세한 시료에 대해서는 필터 백의 사용을 권장합니다.
   b. 물에서 부풀고 점성이 진한 매트릭스(예: 시리얼, 전분)의 경우 점도가 충분히 감소할 때까지 추가로 희석하거나(> 1:10) 멸균 1%(w/v) 알파-아밀라아제를 BPW (ISO)에 첨가할 것을 권장합니다[13].
   c. 분유 및 곡류와 같이 대용량 시료의 경우, 응집물 형성을 방지하기 위해 교반하면서 시료를 용액에 천천히 첨가하십시오.
4. 해당 프로토콜 표(표 2, 3 또는 4 참조)에 명시된 조건에 따라 배양하십시오.

환경 시료

시료 채취 도구는 살균제의 영향을 불활성화하기 위한 중화 용액이 포함된 스폰지를 사용할 수 있습니다. Neogen은 살균제가 없는 셀룰로오스 스폰지의 사용을 권장합니다. 중화 용액으로는 Dey-Engley(D/E) Neutralizing Broth 또는 Letheen Broth를 사용할 수 있습니다. 시료 채취 후에는 해당 구역을 살균할 것을 권장합니다.

경고: 스폰지용 중화 용액으로 아릴 설포네이트 화합물(aryl sulfonate complex)이 포함된 중화 버퍼를 사용하는 경우, 오염 제품 출하로 이어질 수 있는 위음성 결과의 위험을 줄이기 위해 시험 전에 증균된 환경 시료를 1:2로 희석(시료를 동량의 멸균 증균 배지에 넣음, 시료 1+멸균 증균 배지1)해야 합니다. 다른 방법으로는 중화 버퍼 증균액 10 µL를 Neogen Lysis Solution 튜브에 직접 분주할 수도 있습니다.

표면에서 병원성 미생물의 존재 여부를 확인하기 위해 권장되는 시료 채취 면적은 최소 100 cm^2(10 cm × 10 cm 또는 4” × 4”)입니다. 스펀지를 사용하는 경우, 전체 면적을 두 방향(좌우 방향 후 상하 방향)으로 문질러 채취하십시오. 또는 현재 사용 중인 시료 채취 절차나 FDA BAM(1), USDA FSIS MLG(2) 또는 ISO 18593:2018(10) 가이드라인에 따라 환경 시료를 채취하십시오.

대체 시료 채취 방법 또는 희석 비율을 적용하는 경우, 해당 시험 방법이 사용자의 기준을 충족하는지 검증하는 책임은 사용자에게 있습니다.

1. 시험할 매트릭스에 따라 BPW ISO 증균 배지를 41.5±1°C로 예열하십시오. 자세한 사항은 표 2, 3 또는 4를 참조하십시오.
2. 표 2, 3 또는 4에 따라 증균 배지와 시료를 무균적으로 혼합하십시오. 모든 육류 시료 및 고형 입자가 많은 시료의 경우 필터 백 사용을 권장합니다.
3. 블렌딩(blending), 스토마킹(stomaching) 또는 수동 혼합(hand mixing)을 사용하여 2±0.2분 동안 충분히 균질화하십시오. 이후 해당 프로토콜 표에 명시된 조건에 따라 배양하십시오. 자세한 사항은 표 2, 3 또는 4를 참조하십시오.

시료 채취 도구

1. 천을 이용한 시료 채취의 경우, “Cloth Sample Collection Method to Replace N60 Excision Sampling for Beef Manufacturing Trimming and Bench Trim”(14)에 명시된 Food Safety and Inspection Service 지침에 따라 천을 사용하여 매트릭스를 90초 동안 (각 면당 45초) 채취하십시오.
2. 미트(Mitt, 장갑형 시료 채취 도구)를 이용한 시료 채취의 경우, USDA Agricultural Research Service No Objection Letter(15)에 명시된 지침에 따라 미트를 nBPW 25mL로 미리 적신 후, 한쪽 면을 사용하여 매트릭스를 15초간 문지르십시오. 미트를 뒤집어 추가로 15초간 문지르십시오. 미트를 반으로 접은 후 다시 반으로 접어 시료 백에 넣으십시오.
3. BPW ISO 증균 배지를 41.5 ±1°C로 맞추십시오.
4. 시료 채취 도구가 충분히 잠기도록 하여 증균배지와 시료를 무균적으로 혼합하십시오.
5. 모든 시료를 손이나 스토마커 처리하여 최소 30초 이상 섞으십시오. 시료 채취 도구가 배지 내에 완전히 잠긴 상태로 백의 하단부에 위치하도록 한 후, 해당 프로토콜 표(표 2 또는 3 참조)에 명시된 조건에 따라 배양하십시오.

표 2. 일반 증균 프로토콜.

시료 매트릭스	시료량	증균 배지량	증균 온도 (±1°C)	증균 시간(hr)	시료 분주량 (µL)[a]
프로토콜 1 가공 식품(단, 난분말 및 기타 프로토콜에 명시된 제품 제외)[b]	25g	BPW ISO 225mL	37	18~26	20
프로토콜 2 생(Raw) 및 비가공 식품, 난분말, 동물 사료 및 환경 시료[c]	25g	BPW ISO 225mL (예열)	41.5	18~26	20
프로토콜 3 분말 유제품(영아용 조제식 및 대두 기반 영아용 조제식 포함)	25g	BPW ISO 225mL	37	20~26	20
프로토콜 4 코코아 함유 제품(분말, 초콜릿, 과자 등)	25g	0.002% brilliant green dye가 첨가된 멸균 탈지분유 용액 (100 g/L) 225mL[d,e,f]	37	24~30	20

프로토콜 5 기타 제품: 향신료, 허브류, 농축제품, 인스턴트 차 및 커피, 고형 조미료 큐브 포함	25g	0.5% K2SO3가 첨가된 2X BPW ISO 235mL + 멸균 탈지분유 용액 (100 g/L) 240 mL[d,g,h]	37	24~30	10
프로토콜 6 호두 및 호두를 포함한 견과류 믹스 (본 프로토콜은 피칸, 아몬드, 피스타치오, 캐슈넛, 밤, 마카다미아너트, 브라질너트, 대두 견과 및 땅콩을 포함한 기타 견과류에도 적용 가능함)	25g	멸균 탈지분유 용액 (100 g/L) 225 mL[d]	37	18~24	20
프로토콜 7 부츠 삭스(Boot socks, 시료 채취용 부츠 커버 양말)	1켤레 - 부츠 2개	2X BPW ISO 225mL[i]	37	20-26	10
프로토콜 8 부츠 삭스(고농도 칼슘 함유 시료 대상)	1켤레 - 부츠 2개	2X BPW ISO 225mL (증균 후, 1mL를 BPW ISO 9mL에 또는 100µL를 BPW ISO 9.9mL에 옮김)[i,j]	37	20-26	10
프로토콜 9 시료 채취 도구(생소고기 정형육, 생가금류 절단육, 생가금류 도체, 생돼지고기 정형육)	천 1개 또는 미트 1개	BPW ISO 200mL (예열)	41.5	10-24	20

(a) Lysis Solution 튜브로 옮긴 시료의 양. Lysis 섹션, 4.7단계 참조.

(b) 프로토콜1 적용 대상 제품 예시: 즉석섭취식품(ready-to-use meals), 델리 샐러드, 커스터드.

(c) 프로토콜2 적용 대상 제품 예시: 생고기, 냉동 채소, 모든 치즈류, 발효유, 생채소 샐러드(상추, 바타비아).

(d) 무지방 UHT 우유는 탈지분유로 대체할 수 있습니다.

(e) 225mL의 무지방 우유에 1% 수용성 brilliant green dye 용액 0.45mL를 첨가하여 최종 농도가 0.002%(0.02g/L)가 되도록 합니다.

(f) 탈지분유 100g을 증류수 또는 정제수 1L에 현탁하십시오. 완전히 용해될 때까지 혼합한 후, 121°C에서 15분간 오토클레이브 처리하십시오. 이후 2–30°C에서 보관하십시오[11].

(g) BPW ISO 1000mL당 K_2SO_3 5g을 첨가하여, 최종 농도 0.5% K_2SO_3가 되도록 합니다.

(h) 멸균된 0.5% K2SO3 함유 2X BPW ISO 235mL에 멸균 탈지분유 용액(100g/L) 240mL를 첨가해야 합니다.

(i) 2배 농도로 조제하십시오.

(j) 고농도 칼슘이 포함된 부츠 스왑의 경우, 증균 배지에서 1:10 또는 1:100 희석이 필요합니다. 증균 배지 1mL를 BPW ISO 9mL로 옮겨 1:10으로 희석하거나, 100µL를 BPW ISO 9.9mL로 옮겨 1:100으로 희석하십시오.

선택적 2차 증균 단계(예: Rappaport Vassiliadis 배지)를 진행하는 경우 1:2 희석(시료 증균액을 동량의 멸균 증균 배지에 넣음, 시료 증균액1+멸균 증균 배지1)을 하거나 간단히 2차 증균액 10µL를 Neogen Lysis Solution 튜브로 옮깁니다. Tetrathionate(TT) Broth를 사용하는 경우 2차 증균액 20µL를 Neogen Lysis Solution 튜브로 옮기고 침전물 혼입을 방지하기 위해 TT 증균액은 vortex 처리하지 말고, 증균 튜브 하단부에서 피펫팅하지 마십시오.

검증 방법 관련 상세 설명

AOAC® *Official Methods of Analysis℠* 2016.01

AOAC® *Performance Tested℠* 인증서 #091501

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 091501

AOAC Research Institute OMA℠ 및 PTM℠ 프로그램에서, Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라는 살모넬라 검출을 위한 효과적인 시험법으로 확인되었습니다. 본 연구에서 평가된 매트릭스는 표 3에 제시되어 있습니다.

표 3. AOAC OMA℠ 2016.01 및 AOAC PTM℠ 인증서 #091501에 따른 증균 프로토콜. Neogen Lysis Solution 튜브로 옮기는 시료량은 20µL(부츠 삭스 제외)입니다.

시료 매트릭스		시료량	증균 배지량	증균 온도 (±1°C)	증균 시간(hr)
생소고기 분쇄육		25g	BPW ISO 225mL (예열)	41.5	10~24
		325g	BPW ISO 975mL (예열)		
생가금류 분쇄육		25g	BPW ISO 225mL (예열)	41.5	10~24
		325g	BPW ISO 975mL (예열)	41.5	14~24
빵가루를 입힌 조리된 닭고기		325g	BPW ISO 2,925mL	37	18~24
반려견 건조 사료		25g	BPW ISO 225mL	37	18~24
		375g	BPW ISO 1,500mL		
흑후추, 생새우, 포장된 생시금치, 저온살균 가공 아메리칸 치즈		25g	BPW ISO 225mL	37	18~24
닭고기 도체 린스액		30mL	BPW ISO 30mL (예열)	41.5	18~24
닭고기 도체 스폰지		스폰지 1개	BPW ISO 50mL (예열)	41.5	18~24
인스턴트 탈지분유		25g	BPW ISO 225mL	37	20~24
코코아 분말		25g	BPW ISO 225mL	37	24~28
저온 살균 전란액		100mL	BPW ISO 900mL	37	18~24
새싹채소 재배 관개용수		375mL	BPW ISO 3,375mL	37	18~24
크리미 땅콩 버터		25g	BPW ISO 225mL	37	18~24
		375g	BPW ISO 3,375mL		
건조 대마초(Cannabis and hemp) 꽃[b]		10 g	BPW ISO 90mL	41.5	28-32
부츠 삭스[a]		1켤레 - 부츠 2개	2X BPW ISO 225mL [c]	37	20-26
부츠 삭스(고농도 칼슘 함유 시료 대상)[a]		1켤레 - 부츠 2개	2X BPW ISO 225mL (증균 후, 1mL를 BPW ISO 9mL에 또는 100µL를 BPW ISO 9.9mL에 옮김)[c, d]	37	20-26
시료 채취 도구(생쇠고기 정형육, 생돼지고기 정형육)		천 1개[e]	BPW ISO 200mL (예열)	41.5	10-24
시료 채취 도구(생가금류 절단육, 생가금류 도체)		미트 1개[e]	BPW ISO 200mL (예열)	41.5	10-24
표면	코팅된 콘크리트	스폰지 1개	BPW ISO 225mL (예열)	41.5	18~24
	스테인리스 스틸	면봉 1개	BPW ISO 10mL (예열)	41.5	18~24
	코팅된 세라믹 타일	스폰지 1개	BPW ISO 50mL (예열)	41.5	18~24

시료 매트릭스	시료량	증균 배양액량	증균 온도 (±1°C)	증균 시간(hr)	2차 증균 배지 (mL)	2차 증균 온도 (±1°C)	2차 증균 시간 (hr)
생새우(머리 포함)	25g	BPW ISO 225mL	37	18~24	R-V R10 10mL에 1차 증균액 0.1mL 분주	41.5	4~24

(a) 증균 시료 10µL를 Lysis Solution 튜브로 옮깁니다. Lysis 섹션, 4.7단계 참조.

(b) 건조 대마초 꽃(Cannabis, >0.3%THC), 말린 대마초 꽃(Hemp, ≤0.3%THC)

(c) 2배 농도로 조제하십시오.

(d) 고농도 칼슘이 포함된 부츠 스왑의 경우, 증균 배지에서 1:10 또는 1:100 희석이 필요합니다. 증균 배지 1mL를 BPW ISO 9mL로 옮겨 1:10으로 희석하거나, 100µL를 BPW ISO 9.9mL로 옮겨 1:100으로 희석하십시오.

(e) nBPW 25mL로 미리 적셔두십시오.

AFNOR Certification에 의한 NF VALIDATION

3M 01/16 -11/16
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
http://nf-validation.afnor.org/en

유효 기간과 관련한 상세 정보는 상기에 명시한 웹 사이트에 있는 NF Validation 인증서를 참고하십시오.

ISO 6579:2017[3]과 비교하여 ISO 16140-2:2016[12]을 준수하는 NF VALIDATION 인증 방법입니다.

검증의 범위: 모든 식품, 생산 환경 시료(1차 생산 시료 포함), 반려동물 사료 및 동물 사료. 다양한 식품군에 대해 검증 시험을 수행하여 확인

시료 준비: 시료는 EN ISO 6579:2017[3] 및 EN ISO 6887[13]에 따라 준비하십시오.

소프트웨어 버전: 인증서 참고.

표 4. NF VALIDATION 인증 방법 3M 01/16 -11/16 따른 증균 프로토콜.

프로토콜	시료량	증균 배양액량	증균 온도 (+1°C)	증균 시간(hr)	시료 분석량 (µL)[a]
프로토콜 1: • 광범위한 가공식품(단, 난분말, 가공 과일 및 채소, 기타 프로토콜에 명시된 제품 제외) • 모든 어류 및 생수산물 • 반려동물 사료 및 동물 사료 • 1차 생산 시료(분변 제외)	25g	BPW ISO 225mL	37	18~26	20
프로토콜 2: • 광범위한 생(Raw) 및 비가공 식품 (어류 및 수산물 제외, 기타 프로토콜에 명시된 제품 제외) • 난분말 • 모든 과일 및 채소 • 식품 생산 환경 시료	25g 또는 와이프 1개 또는 면봉 1개	예열된 BPW ISO 225mL	41.5	18~26	20
프로토콜 3: • 분말 유제품	25g	BPW ISO 225mL	37	20~26	20
프로토콜 4: • 20% 이상 코코아를 함유한 코코아 제품	25g	0.002% brilliant green+무지방 UHT 우유 225mL	37	24~30	20

프로토콜 5: • 향신료, 허브류, 농축제품, 차, 커피, 조리용 혼합물	25g	2X BPW ISO 235mL+0.5% K_2SO_3+무지방 UHT 우유 240mL	37	24~30	10
프로토콜 6: • 생고기	25g	예열된 BPW ISO 225mL	41.5	10~24	20
프로토콜 7: • 1차 생산 시료(분변)	부츠 삭스 1켤레	Tetrathionate Broth 100mL	37	22~24	20
	25g	Tetrathionate Broth 225mL			
프로토콜 8: • 영아용 조제식, 영아용 곡류식, 프로바이오틱스 미함유 유제품 분말(b)	375g	예열된 BPW ISO 3375mL	37	20~26	20
프로토콜 9: • 영아용 조제식, 영아용 곡류식, 프로바이오틱스 함유 유제품 분말(b)	375g	Vancomycin (10mg/L)+예열된 BPW ISO 3375mL	37	20~26	20

(a) Lysis Solution 튜브로 옮긴 시료의 양. **Lysis** 섹션, 4.7단계 참조.

(b) 분유 및 곡류와 같이 대용량 시료의 경우, 응집물 형성을 방지하기 위해 교반하면서 시료를 용액에 천천히 첨가하십시오.

참고:

- 25g을 초과하는 시료는 NF VALIDATION 연구에서 프로토콜 8과 9를 제외하고 검증되지 않았습니다.
- 단기 검출 프로토콜은 배양 조건에 민감합니다. 기술 사양에 명시된 온도 조건을 반드시 준수해야 합니다. 사용자는 증균 배양액을 미리 가열하여 배양 전 기준 온도에 도달했는지 확인해야 합니다. 시료 준비 시간 및 증균 배지 예열 종료 시점부터 시료 배양 시작 시점까지의 시간 간격은 45분을 초과해서는 안 됩니다. 배양에는 환기 장치가 있는 배양기 사용을 권장합니다.
- **Tetrathionate(TT) broth 증균액을 Neogen Lysis 튜브로 옮길 때에는 TT 증균액을 vortex 처리하지 말고, 증균 튜브 하단부에서 피펫팅하지 마십시오. 침전물 혼입 시 부적합한 결과가 나올 수 있습니다.**
- 권장 프로토콜 중단 지점은 증균 후 또는 시료 Lysis 후입니다. 증균액 또는 시료 lysate는 최대 72시간까지 2~8°C에서 보관할 수 있습니다. 보관 후 시험을 재개할 경우, 증균액은 Lysis 1단계부터, 시료 Lysate는 Lysis 8단계부터 시험을 재개하십시오.

Neogen® Molecular Detection 스피드 로더 트레이 준비

1. 1~5%(v:v 물) 가정용 표백 용액을 천 또는 1회용 타월에 적셔 Neogen® Molecular Detection 스피드 로더 트레이를 닦습니다.
2. 물로 Neogen Molecular Detection 스피드 로더 트레이를 헹굽니다.
3. 1회용 타월을 사용하여 Neogen Molecular Detection 스피드 로더 트레이를 닦아서 말립니다.
4. 사용하기 전에 Neogen Molecular Detection 스피드 로더 트레이가 마른 상태인지 확인하십시오.

이 절차에는 Neogen Molecular Detection 히팅/칠링 블록 인서트 2개가 필요합니다. 두 인서트는 동일한 제품(700000145)이지만 서로 다른 용도로 사용됩니다.

절차상 명확성을 위해 가열 단계에 사용되는 인서트는 Molecular Detection 히팅 블록 인서트, 냉각 단계에 사용되는 인서트는 Molecular Detection 칠링 블록 인서트라고 지칭합니다. 이러한 명칭은 역할을 구분하기 위한 것일 뿐이며, 별도의 제품을 의미하지는 않습니다.

Neogen® Molecular Detection 칠링 블록 인서트 준비

Neogen® Molecular Detection 칠링 블록 인서트를 실험대에 두고 사용합니다. 실험실 상온(20~25°C)에서 블록을 사용합니다.

Neogen® Molecular Detection 히팅 블록 인서트 준비

Neogen® Molecular Detection 히팅 블록 인서트를 건식 히팅 장치에 장착합니다. 건식 히팅 장치를 켜고 Neogen Molecular Detection 히팅 블록 인서트가 100±1°C를 유지할 수 있도록 합니다.

참고: 히터 장치에 따라, Neogen Molecular Detection 히팅 블록 인서트가 온도에 도달하는 데 약 30분이 걸릴 수 있습니다. 적절하게 교정된 온도계(예: 부분 침지형 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 완전 침지형 온도계는 사용하지 마십시오)를 지정된 위치에 놓아 Neogen Molecular Detection 히팅 블록 인서트의 온도가 100±1°C인지 확인합니다.

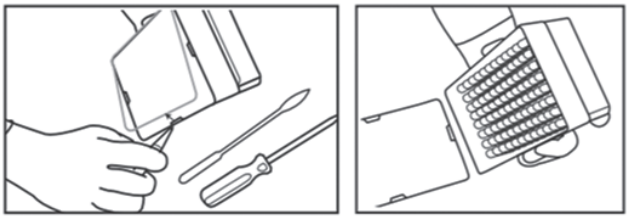
Neogen® Molecular Detection 장비 준비

1. Neogen® Molecular Detection 소프트웨어를 실행하고 로그인합니다. Neogen Food Safety 담당자에게 문의하여 이 소프트웨어가 최신 버전인지 확인하십시오.
2. Neogen Molecular Detection 장비를 켭니다.
3. 각 시료에 대한 데이터를 입력하여 run을 생성하거나 편집하십시오 자세한 내용은 Neogen Molecular Detection System 사용 설명서를 참조하십시오.

참고: 시약 펠렛을 반응시킨 튜브를 Neogen Molecular Detection 스피드 로더 트레이를 삽입하기 전에 Neogen Molecular Detection 장비가 준비 상태에 도달해야 합니다. 이 가열 단계는 약 20분이 소요되며, 완료되면 기기의 상태 표시줄에 주황색 등이 켜집니다. 기기가 실행할 준비가 되면 상태 표시줄이 녹색으로 바뀝니다.

Lysis

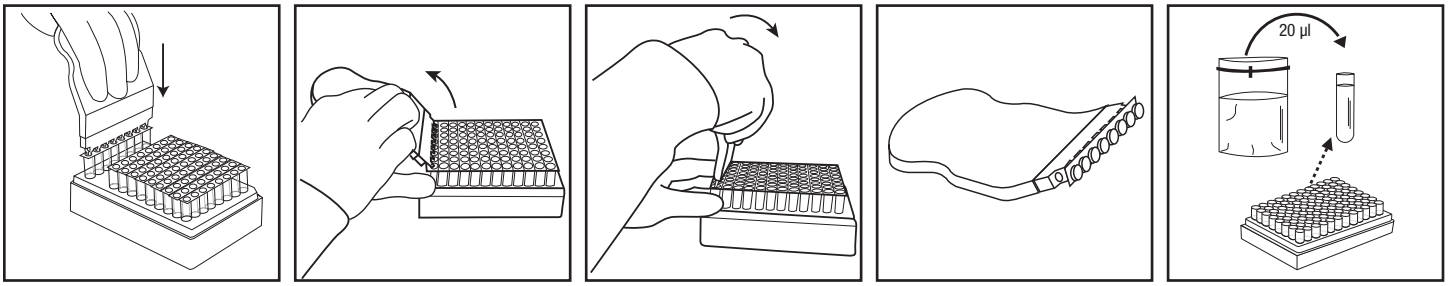
Neogen Molecular Detection 히팅 블록 인서트에 부착하기 전에 스크루드라이버나 스패츌러로 Neogen Lysis Solution 랙의 하단을 제거합니다.



1. Neogen Lysis Solution 튜브를 상온(15–25°C)에 맞추기 위해 랙에 넣고 16–18시간 동안 상온 방치하십시오. Neogen Lysis Solution 튜브를 상온으로 맞추기 위한 대체 방법은 다음과 같습니다. Neogen Lysis Solution 튜브를 실험대 위에 최소 2시간 상온 두거나, 37 ± 1°C 배양기에서 1시간 동안 두거나, 100 ± 1°C로 설정된 건식 히팅 장치에 30초 동안 두십시오.
2. 캡을 닫은 튜브를 뒤집어 혼합하십시오. 뒤집은 후 4시간 이내에 다음 단계로 진행하십시오.
3. 배양기에서 증균된 시료를 꺼내십시오.
4. 각 시료 및 음성 대조군(멸균 증균 배지)당 Neogen Lysis Solution 튜브 1개가 필요합니다.
   - 4.1 Neogen Lysis Solution 튜브 스트립을 필요한 만큼 잘라서 사용할 수 있습니다. Neogen Lysis Solution 튜브의 수를 필요한 만큼 잘라 준비합니다. Neogen Lysis Solution 튜브를 빈 랙에 두어 사용하십시오.
   - 4.2 교차 오염을 방지하기 위해 한 번에 한 줄씩 Neogen Lysis Solution 튜브 스트립의 캡을 벗기고 분주할 때마다 새로운 피펫 팁을 사용하십시오.
   - 4.3 아래 설명된 대로, 증균된 시료를 Neogen Lysis Solution 튜브로 옮깁니다.

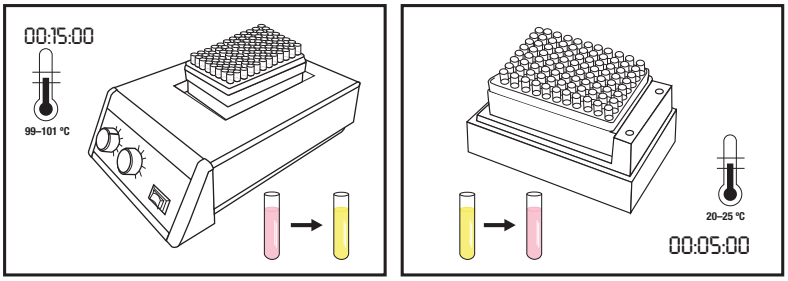
     각 증균된 시료를 개별 Neogen Lysis Solution 튜브로 **먼저** 분주합니다. 음성 대조군을 가장 마지막에 분주합니다.

   - 4.4 Neogen® Molecular Detection Lysis 캡/디캡 툴을 사용하여 한 번에 하나의 Neogen Lysis Solution 튜브 스트립의 캡을 제거하십시오.
   - 4.5 Neogen Lysis Solution 튜브 캡은 폐기하십시오. 재시험을 위해 lysate를 그대로 둘 경우 캡을 깨끗한 용기에 두어 단, 재시험을 위해 lysate를 보관해야 하는 경우, 캡을 깨끗한 용기에 보관한 후 lysis 이후 재사용할 수 있도록 하십시오. 후 다시 사용할 수 있도록 합니다.
     - 4.5.1 보관된 Lysate 처리에 대해서는 부록 A를 참조하십시오.
   - 4.6 점성이 있는 시료를 취급하는 경우, 여과된 측면에서 시료를 채취하기 전에 증균 백을 충분히 혼합하십시오.
   - 4.7 프로토콜 표에 별도로 명시되지 않은 경우(예: 프로토콜 5, RVS에서의 2차 증균 또는 중화 버퍼를 사용하는 환경 시료의 경우), Neogen Lysis Solution 튜브에 20µL의 시료를 분주하십시오.



5. 각 시료가 해당 Neogen Lysis Solution 튜브 스트립에 모두 분주될 때까지 4.4~4.7 단계를 반복하십시오.
6. 모든 시료 분주가 완료되면, 음성 대조군(무균 증균 배지, 예: BPW)를 20µL 취하여 Neogen Lysis Solution 튜브로 분주하십시오. 음성 대조군으로 물을 사용하지 마십시오.
7. Neogen Molecular Detection 히팅 블록 인서트의 온도가 100±1°C인지 확인합니다.
8. 가열 단계: 캡을 씌우지 않은 Neogen Lysis Solution 튜브를 랙에 넣어 Neogen Molecular Detection 히팅 블록 인서트에 넣고 15±1분 동안 가열하십시오. 가열 중 Neogen Lysis Solution 용액은 분홍색(냉각 상태)에서 노란색(가열 상태)으로 색이 변합니다.

   8.1. Lysis 단계 동안 적절한 열처리가 되지 않은 시료는 잠재적 생물학적 위험 요소로 간주되므로 Neogen Molecular Detection 장비에 절대로 삽입하지 마십시오.
9. 냉각 단계: 캡을 씌우지 않은 Neogen Lysis Solution 튜브의 랙을 히팅 블록 인서트에서 제거하고, Neogen Molecular Detection 칠링 블록 인서트로 옮겨 최소 5분에서 최대 10분까지 냉각시킵니다. Neogen Molecular Detection 칠링 블록 인서트는 항상 상온에서 사용하므로 실험실 벤치 위에 그대로 두십시오. 냉각 과정에서 Neogen Lysis Solution은 다시 분홍색으로 변합니다.
10. Neogen Lysis Solution 튜브의 랙을 Neogen Molecular Detection 칠링 블록 인서트에서 제거합니다.



증폭

1. 각 시료 및 음성 대조군 당 Neogen Molecular Detection Assay2 - 살모넬라 Reagent 튜브 1개가 필요합니다.

   1.1 튜브 스트립을 필요한 만큼 잘라서 사용할 수 있습니다. 개별 Neogen Molecular Detection Assay 2 - Neogen Molecular Detection Assay 2- 살모넬라 Reagent 튜브의 수를 필요한 만큼 잘라 준비합니다.

   1.2 Neogen Reagent 튜브를 빈 랙에 놓으십시오.

   1.3 튜브 하단부에 있는 Reagent 펠렛이 흐트러지지 않게 하십시오.
2. Reagent Control 튜브 1개를 선택하여 랙에 두십시오.
3. 교차 오염을 방지하기 위해 한 번에 하나의 Reagent 튜브 스트립의 캡을 제거하고, 각 분주 단계마다 새로운 피펫 팁을 사용하십시오.
4. 다음과 같이 각 lysate를 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 Reagent 튜브 및 Neogen Reagent Control 튜브로 분주하십시오.

   각 시료 Lysate를 개별 Reagent 튜브로 **먼저** 분주한 뒤음성 대조군을 분주합니다. **마지막**에 Neogen Reagent Control 튜브를 수화합니다.
5. Neogen® Molecular Detection Reagent 캡/디캡 툴을 사용하여 한 번에 스트립 하나씩 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 Reagent 튜브의 캡을 벗깁니다. 캡은 폐기하십시오.

   5.1 **Neogen Lysis Solution 튜브에서 용액의 상부 ½에서 시료 Lysate 20µL를 침전되지 않도록 하여 해당 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 Reagent 튜브로 옮깁니다. 알갱이가 휘저어져 섞이지 않도록 기울여 붓습니다. 위아래로 가볍게 5번을 피펫팅하여 혼합하십시오.**

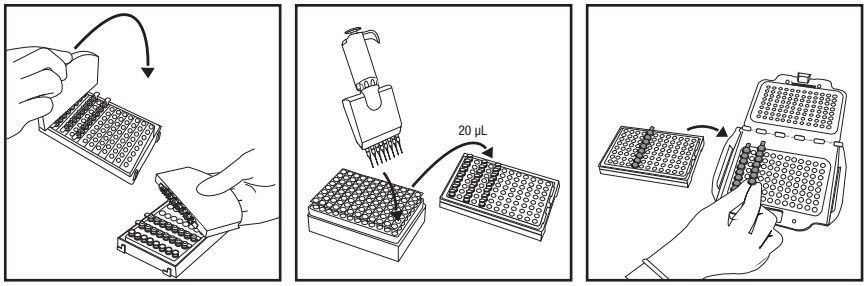
   5.2 개별 시료 Lysate이 스트립의 해당 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 Reagent 튜브에 추가될 때까지 5.1단계를 반복합니다.

   5.3 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 Reagent 튜브를 여분 캡으로 덮고, Neogen Molecular Detection Reagent 캡/디캡 툴의 둥근 면을 사용하여 앞뒤로 압력을 가하여 캡을 견고하게 밀봉하십시오.

   5.4 검사할 시료 수에 따라 5.1~5.3 단계를 반복하십시오.

   5.5 모든 시료의 Lysate를 분주한 후, 5.1~5.3단계를 반복하여 음성 대조군 Lysate 20µL를 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 Reagent 튜브로 분주합니다.

   5.6 **NC lysate 20µL를 Neogen Reagent Control 튜브**로 옮깁니다. 알갱이가 휘저어져 섞이지 않도록 기울여 붓습니다. 위아래로 가볍게 5번을 피펫팅하여 섞습니다.
6. 캡이 닫힌 튜브를 오염이 제거된 Neogen Molecular Detection 스피드 로더 트레이에 내려놓습니다. Neogen Molecular Detection 스피드 로더 트레이 뚜껑을 닫고 잠금 상태로 고정하십시오.



7. Neogen Molecular Detection 시스템 소프트웨어에서 설정된 런을 검토하고 확인하십시오.
8. 소프트웨어에서 시작 버튼을 클릭하고 사용할 장비를 선택합니다. 선택한 장비의 뚜껑이 자동으로 열립니다.
9. Neogen Molecular Detection 스피드 로더 트레이를 Neogen Molecular Detection 장비에 놓고 뚜껑을 닫으면 시험이 시작됩니다. 결과는 60분 이내에 제공되며, 양성 결과는 더 빠르게 확인될 수 있습니다.
10. 시험이 완료되었으면 Neogen Molecular Detection 장비에서 Neogen Molecular Detection 스피드 로더 트레이를 꺼내고 1~5%(v:v 물)의 가정용 표백 용액에 1시간 동안 담갔다가 분석 준비 영역에서 분리된 장소에서 폐기하십시오.

주의: 교차 오염으로 인한 위양성의 위험을 최소화하려면 증폭된 DNA를 포함한 Reagent 튜브를 절대 열지 마십시오. 여기에는 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 Reagent, Neogen Reagent Control 및 Neogen Matrix Control(매트릭스 대조군) 튜브가 포함됩니다. 밀봉된 Reagent 튜브는 1~5%(v:v 물)의 가정용 표백제에 1시간 동안 담가 두었다가 키트 준비 구역과 멀리 떨어진 위치에 폐기합니다.

결과 및 판독

핵산 증폭 검출 과정에서 발생하는 발광(light output) 곡선은 알고리즘에 의해 판독됩니다. 결과는 소프트웨어에 의해 자동으로 분석되고 결과에 기반하여 색상으로 구분됩니다. 양성 또는 음성 결과는 다양한 고유 곡선 파라미터 분석을 통해 결정됩니다. 추정 양성 결과는 실시간으로 보고되며, 음성 및 검사(Inspect) 결과는 분석 종료 후 표시됩니다.

추정 양성 시료는 시험실 표준 운영 절차(SOP)에 따라 또는 적절한 표준 참고시험법(1,2,3)에 따라 확인시험을 수행해야 합니다. 확인 시험은 1차 증균에서 2차 증균 배지로 분주하는 단계부터 시작하며, 이후 도말 배양 및 적절한 생화학적·혈청학적 방법을 이용한 균 동정으로 진행합니다.

참고: 시스템과 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 증폭 시약은 "배경" RLU를 가지므로 음성 시료의 결과는 0으로 표시되지 않습니다.

드물게 비정상적인 발광 신호가 발생하는 경우, 알고리즘은 이를 "검사(Inspect)"로 분류합니다. Neogen은 모든 검사 시료에 대해 시험을 반복하는 것을 권장합니다. 반복 시험 후에도 결과가 계속 검사(Inspect)로 나타나는 경우, 기본 설정한 방법을 사용하거나 현지 규정에 따라 확인 시험을 진행하십시오.

표 5. 다양한 소프트웨어 결과에 대한 기호 및 정보

웰 유형	웰 결과 기호	결과	해석
시료		추정 양성	시료는 대상 병원성 미생물에 대해 양성으로 추정됩니다.
시료		음성	시료는 대상 병원성 미생물에 대해 음성입니다.
시료		저해	시료 매트릭스가 시험에 대해 저해를 일으켰습니다. 재시험이 필요할 수 있습니다.
시료		검사	대상 병원성 미생물의 존재 여부를 확인할 수 없습니다. 재시험이 필요할 수 있습니다.
시료		오류	발광 신호가 검출되지 않았습니다. 재시험이 필요할 수 있습니다.

*결과에 관해 자세한 내용은 실행 보고서를 참조하십시오. 문제 해결에 도움이 필요하다면 현지 네오젠(Neogen) 담당자에게 문의하시기 바랍니다.

NF VALIDATION 인증 방법에 따른 결과 확정

NF VALIDATION의 경우 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라에서 양성으로 식별된 모든 시료는 다음 중 하나의 시험에 따라 확인해야 합니다:

방법 1: Buffered Peptone Water[3] 증균액부터 ISO 6579[3] 표준 사용.

방법 2: 다음과 같은 확인 시험 방법을 수행하십시오: BPW ISO(3) 증균액 또는 Tetrathionate 배지 증균액(1차 생산 시료)을 0.1mL 취하여 RVS 배지 10mL에 접종하십시오. 41.5°C에서 24±3시간 동안 배양합니다. Xylose Lysine Deoxycholate(XLD)(3) 한천 배지 또는 살모넬라에 선택성을 가지는 발색 배지에 도말하십시오. 단일 집락을 대상으로 Oxoid 살모넬라 라텍스 검사를 이용해 라텍스 응집 시험을 수행하십시오.

옵션 3: XLD 또는 발색 한천배지에서 단일 집락에 대해 EN ISO 7218:2024[5] 표준에 설명된 핵산 프로브를 사용하여 확인 시험을 수행합니다(옵션 1 또는 2 참조). 이 시험은 Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라를 이용해 수행해서는 안 됩니다.

방법 4: Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라와 다른 원리를 가진 NF VALIDATION 인증을 받은 다른 방법을 사용할 수 있습니다. 해당 2차 검증 방법에 대해 설명된 전체 프로토콜을 사용해야 합니다. 확인시험 시작 이전 단계까지의 모든 과정은 두 방법 간 공통으로 적용되어야 합니다.

결과가 불일치하는 경우(Neogen Molecular Detection Assay 2 - 살모넬라 사용 시 추정 양성, 상기 방법 중 한 가지로 확인 불가 및 특히 라텍스 응집 검사에 대해), 실험실은 필요 단계를 따라 취득한 결과의 유효성을 확인해야 합니다.

구체적인 용도나 절차에 대하여 궁금한 점이 있으면 당사 웹사이트(www.neogen.com)를 방문하거나 현지 Neogen 또는 판매업체로 문의하십시오.

부록 A. 프로토콜 중단: 열처리된 Lysate 보관 및 재시험

1. 열처리된 Lysate를 보관하려면 깨끗한 캡을 사용하여 lysis 튜브를 다시 밀봉하십시오(**Lysis** 섹션 4.5 참조).
2. 4~8°C에서 최대 72시간 동안 보관합니다.
3. 보관된 시료는 증폭 준비를 위해 2~3회 뒤집어 혼합하십시오.
4. 튜브의 캡을 제거하십시오.
5. Neogen Molecular Detection 히팅 블록 인서트에 혼합된 Lysate 튜브를 놓고 100±1°C에서 5±1분간 가열합니다.
6. Neogen Lysis Solution 튜브의 랙을 히팅 블록에서 제거하고 Neogen Molecular Detection 칠링 블록 인서트에 최소 5분에서 최대 10분까지 냉각시킵니다.
7. 위에서 상세히 설명한 **증폭** 섹션의 프로토콜을 계속합니다.

참고자료:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella.,* Section C-24. November 2018 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.10. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and siluriformes (fish) products and carcass and environmental sponges. Effective Date: 2 January 2019.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance 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 18593. Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling.
8. US Food and Drug Administration – *Bacteriological Analytical Manual*, Medium M111: Nonfat Dry Milk (Reconstituted). January 2011.
9. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain - part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
10. ISO 6887-1:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
11. ISO 6887-2:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products.
12. ISO 6887-3:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products.
13. ISO 6887-4:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products.
14. ISO 6887-5:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
15. ISO 6887-6:2013. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 6: Specific rules for the preparation of samples taken at the primary production stage.

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 2026. All rights reserved.
Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
All other trademarks are the property of their respective companies.

© 2026, Neogen. Tous droits réservés.
Neogen est une marque de commerce de Neogen.
Toutes les autres marques de
commerce appartiennent à leur propriétaire respectif.
FS00869B

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

dZ

Requester: Kristin Wincek
Creator: deZinnia_33023
File Name: FS00869A.indd
Structure #: N/A
Date: 01/08/24

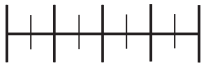
Printed Colors – Front:

C M Y K PMS 6160

Printed Colors – Back:

C M Y K PMS 6160

Match Colors:

Scale:  1 Inch

This artwork has been created as requested by Neogen. Neogen is responsible for the artwork AS APPROVED and assumes full responsibility for its correctness.