






















-  (EN) **Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes***
-  (FR) **Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* version 2**
-  (DE) **Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis**
-  (IT) **Analisi molecolare di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes***
-  (ES) **Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes***
-  (NL) **Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes***
-  (SV) **Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes***
-  (DA) **Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes***
-  (NO) **Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes***
-  (FI) **Molekyläärinen testisetti 2 - *Listeria monocytogenes***
-  (PT) **Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2**
-  (EL) **Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης – *Listeria monocytogenes* 2**
-  (PL) **Molekularny test do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes***
-  (RU) **Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes***
-  (TR) **Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2**
-  (JA) **分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネス**
-  (ZH) **单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌 (Simplified)**
-  (ZH) **分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌 (Traditional)**
-  (TH) **ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีเนส ระดับโมเลกุล 2**
-  (KO) **분자 검출 키트 2 - 리스테리아 모노사이토제네스용**
-  (ID) **Deteksi Molekuler untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2**

2

Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes*

Product Instructions

MDA2LM096

PRODUCT DESCRIPTION AND INTENDED USE

3M™ Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* is used with the 3M™ Molecular Detection System for the rapid and specific detection of *Listeria monocytogenes* in enriched food and environmental samples.

The 3M 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 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* is intended for use in a laboratory environment by professionals trained in laboratory techniques. 3M has not documented the use of this product in industries other than food or beverage. For example, 3M has not documented this product for testing water, pharmaceutical, cosmetics, clinical or veterinary samples. The 3M Molecular Detection Assay - 2 *Listeria monocytogenes* has not been evaluated with all possible 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. 3M 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.

3M has evaluated the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* with Demi-Fraser Broth containing Ferric Ammonium Citrate. A typical formulation of this medium follows below.

Demi-Fraser Broth Base Typical Formula (g/L)

Sodium Chloride	20 g
Sodium Phosphate, dibasic, anhydrous*	9.6 g
Beef Extract	5.0 g
Pancreatic Digest of Casein	5.0 g
Peptic Digest of Animal Tissue	5.0 g
Yeast Extract	5.0 g
Lithium Chloride	3.0 g
Potassium Phosphate, monobasic	1.35 g
Esculin	1.0 g
Acriflavin HCl	0.0125 g
Nalidixic Acid	0.01 g
* Substitute: Sodium Phosphate, dibasic, dihydrate	12.0 g

Fraser Broth Supplement

(Ingredients per 10 mL vial. One vial is added to one liter of basal medium.)

Ferric Ammonium Citrate	0.5g/10mL
-------------------------	-----------

Final pH 7.2 ± 0.2 at 25°C

The 3M™ 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 3M Molecular Detection Instrument.

3M Food Safety is certified to ISO (International Organization for Standardization) 9001 for design and manufacturing.

The 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* test kit contains 96 tests, described in Table 1.

Table 1. Kit Components

Item	Identification	Quantity	Contents	Comments
Lysis Solution (LS) tubes	Pink solution in clear tubes	96 (12 strips of 8 tubes)	580 µL of LS per tube	Racked and ready to use
<i>Listeria monocytogenes</i> Reagent tubes	Yellow tubes	96 (12 strips of 8 tubes)	Lyophilized specific amplification and detection mix	Ready to use
Extra caps	Yellow caps	96 (12 strips of 8 caps)		Ready to use
Reagent Control (RC)	Clear flip-top tubes	16 (2 pouches of 8 individual tubes)	Lyophilized control DNA, amplification and detection mix	Ready to use
Quick Start Guide		1		

The Negative Control, not provided in the kit, is sterile enrichment medium, e.g., Demi-Fraser Broth. Do not use water as a Negative Control.

SAFETY

The user should read, understand and follow all safety information in the instructions for the 3M Molecular Detection System and the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes*. Retain the safety instructions for future reference.

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

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

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

⚠ WARNING

Do not use the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* in the diagnosis of conditions in humans or animals.

The 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* method may generate *Listeria monocytogenes* to levels sufficient to cause stillbirths and fatalities in pregnant women and the immunocompromised, if exposed.

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

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

- Follow the protocol and perform the tests exactly as stated in the product instructions.
- Store the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* as indicated on the package and in the product instructions.
- Always use the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* by the expiration date.
- Use the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* for food and environmental samples that have been validated internally or by a third party.
- Use the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* only for 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). 3M™ sample handling products which include neutralizing buffer: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB and HS119510NB.

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

- It is strongly recommended that female laboratory staff be informed of the risk to a developing fetus resulting from infection of the mother through exposure to *Listeria monocytogenes*.
- Perform pathogen testing in a properly equipped laboratory under the control of trained personnel.
- Always follow standard laboratory safety practices, including wearing appropriate protective apparel and eye protection while handling reagents and contaminated samples.
- Avoid contact with the contents of the enrichment media and reagent tubes after amplification.
- Dispose of enriched samples according to current industry standards.

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 current industry standards for disposal of contaminated waste.

⚠ CAUTION

- Do not exceed the recommended temperature setting on heater.
- Do not exceed the recommended heating time.
- Use an appropriate, calibrated thermometer to verify the 3M™ 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 3M Molecular Detection Heat Block Insert.



NOTICE

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

- 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.

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

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

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.3M.com/foodsafety or contact your local 3M representative or distributor.

LIMITATION OF WARRANTIES / LIMITED REMEDY

EXCEPT AS EXPRESSLY STATED IN A LIMITED WARRANTY SECTION OF INDIVIDUAL PRODUCT PACKAGING, 3M DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE. If any 3M Food Safety Product is defective, 3M 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 3M within sixty days of discovery of any suspected defects in a product and return it to 3M. Please call Customer Service (1-800-328-1671 in the U.S.) or your official 3M Food Safety representative for a Returned Goods Authorization.

LIMITATION OF 3M LIABILITY

3M 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 3M's liability under any legal theory exceed the purchase price of the product alleged to be defective.

USER RESPONSIBILITY

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at www.3M.com/foodsafety, or contact your local 3M 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, and laboratory technique 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 3M Food Safety product do not constitute a guarantee of the quality of the matrices or processes tested.

To help customers evaluate the method for various food matrices, 3M has developed the 3M™ Molecular Detection Matrix Control kit. When needed, use the Matrix Control (MC) to determine if the matrix has the ability to impact the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* results. Test several samples representative of the matrix, i.e. samples obtained from different origin, during any validation period when adopting the 3M method or when testing new or unknown matrices or matrices that have undergone raw material or process changes.

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

STORAGE AND DISPOSAL

Store the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* 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 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* 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 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* tubes can potentially contain pathogenic materials. When testing is complete, follow current industry standards for the disposal of contaminated waste. Consult the Safety Data Sheet for additional information and local regulations for disposal.

INSTRUCTIONS FOR USE

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

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

SAMPLE ENRICHMENT

Table 2 presents guidance for the enrichment of food and environmental samples. It is the user's responsibility to validate alternate sampling protocols or dilution ratios to ensure this test method meets the user's criteria.

Foods

1. Allow the Demi-Fraser Broth enrichment medium (includes ferric ammonium citrate) to equilibrate to ambient laboratory temperature.
2. Aseptically combine the enrichment medium and sample according to Table 2. 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 at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ according to Table 2.
4. For raw dairy products, transfer 0.1 mL of the primary enrichment into 10 mL of Fraser Broth. Incubate at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 20-24 hours.

Environmental samples

Sample collection devices can be a sponge hydrated with a neutralizing solution to inactivate the effects of the sanitizers. 3M recommends the use of a biocide-free cellulose sponge. Neutralizing solution can be Dey-Engley (D/E) Neutralizing Broth or Lethen broth. It is recommended to sanitize the area after sampling.

WARNING: Should you select to use Neutralizing Buffer (NB) 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.

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"x4"). 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⁽⁶⁾ guidelines.

1. Allow the Demi-Fraser Broth enrichment medium (includes ferric ammonium citrate) to equilibrate to ambient laboratory temperature.
2. Aseptically combine the enrichment medium and sample, according to Table 2.
3. Homogenize thoroughly by blending, stomaching, or hand mixing for 2 ± 0.2 minutes. Incubate at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 24-30 hours.

Table 2: Enrichment protocols using Demi-Fraser Broth Enrichment

Sample Matrix	Sample Size	Enrichment Broth Volume (mL)	Enrichment Temperature (°C)	Enrichment Time (hr)				
Heat-processed, cooked, cured meats, poultry, seafood and fish Heat-processed / pasteurized dairy products Produce and vegetables Multi-component foods	25 g	225	37	24-30				
Environmental samples	1 sponge	100 or 225	37	24-30				
	1 swab	10	37	24-30				
Raw meat, poultry, seafood, fish	25 g	475	37	28-32				
Sample Matrix	Primary Enrichment (Demi-Fraser Broth)				Secondary Enrichment (Fraser Broth)			Sample Analysis Volume (a)
	Sample Size	Enrichment Broth Volume (mL)	Enrichment Temperature (°C)	Enrichment Time (hr)	Sample Size	Enrichment Temperature (°C)	Enrichment Time (hr)	
Raw dairy products	25 g	225	37	20-24	Transfer 0.1 mL into 10 mL Fraser Broth	37	20-24	10 µL

(a) Volume of sample transferred to Lysis Solution tubes. Refer to Step 4.6 of Lysis section.

PREPARATION OF THE 3M™ MOLECULAR DETECTION SPEED LOADER TRAY

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

PREPARATION OF THE 3M™ MOLECULAR DETECTION CHILL BLOCK INSERT

Place the 3M™ Molecular Detection Chill Block directly on the laboratory bench; (the 3M™ Molecular Detection Chill Block Tray is not used). Use the chill block at ambient laboratory temperature (20-25°C).

PREPARATION OF THE 3M™ MOLECULAR DETECTION HEAT BLOCK INSERT

Place the 3M™ 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 3M 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 3M Molecular Detection Heat Block Insert to reach temperature. Using an appropriate, calibrated thermometer (e.g., a partial immersion thermometer or digital thermocouple thermometer, not a total immersion thermometer) placed in the designated location, verify that the 3M Molecular Detection Heat Block Insert is at 100 ±1°C.

PREPARATION OF THE 3M™ MOLECULAR DETECTION INSTRUMENT

1. Launch the 3M™ Molecular Detection Software and log in.
2. Turn on the 3M Molecular Detection Instrument.
3. Create or edit a run with data for each sample. Refer to the 3M Molecular Detection System User Manual for details.

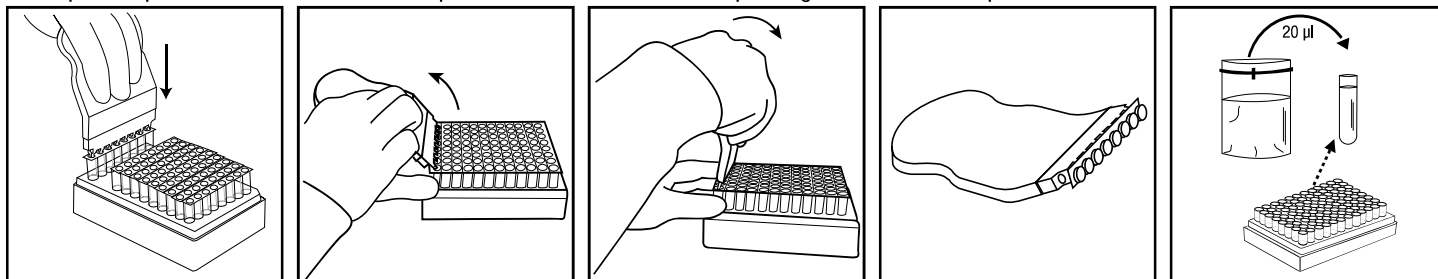
NOTE: The 3M Molecular Detection Instrument must reach and maintain temperature of 60°C before inserting the 3M Molecular Detection Speed Loader Tray with reaction tubes. This heating step takes approximately 20 minutes and is indicated by an ORANGE light on the instrument's status bar. When the instrument is ready to start a run, the status bar will turn GREEN.

LYSIS

1. Allow the lysis solution (LS) tubes to warm up by setting the rack at room temperature (20-25 °C) overnight (16-18 hours). Alternatives to equilibrate the LS tubes to room temperature are to set the LS tubes on the laboratory bench for at least 2 hours, incubate the LS tubes in a 37 ±1°C incubator for 1 hour or place them in a dry double block heater for 30 seconds at 100°C.
2. Invert the capped tubes to mix. Proceed to next step within 4 hrs.
3. Remove the enrichment broth from the incubator.
4. One LS tube is required for each sample and the Negative Control (NC) (sterile enrichment medium) sample.
 - 4.1 LS tube strips can be cut to desired LS tube number. Select the number of individual LS tubes or 8-tube strips needed. Place the LS tubes in an empty rack.
 - 4.2 To avoid cross-contamination, decap one LS tubes strip at a time and use a new pipette tip for each transfer step.
 - 4.3 Transfer enriched sample to LS tubes as described below:

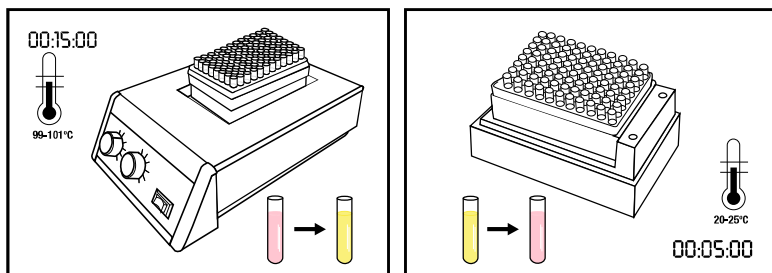
Transfer each enriched sample into an individual LS tube **first**. Transfer the NC **last**.

- 4.4 Use the 3M™ Molecular Detection Cap/Decap Tool-Lysis to decap one LS tube strip - one strip at a time.
- 4.5 Discard the LS tube cap – if lysate will be retained for retest, place the caps into a clean container for re-application after lysis. For processing of retained lysate, see Appendix A.
- 4.6 Transfer 20 µL of sample into a LS tube unless otherwise indicated in Protocol Table 2. e.g. Raw dairy products use 10 µL.
5. Repeat step 4.2 until each individual sample has been added to a corresponding LS tube in the strip.



6. Repeat steps 4.1 to 4.6 as needed, for the number of samples to be tested.
7. When all samples have been transferred, transfer 20 µL of NC (sterile enrichment medium, e.g., Demi-Fraser Broth) into a LS tube. Do not use water as a NC.
8. Verify that the temperature of the 3M Molecular Detection Heat Block Insert is at 100 ±1°C.
9. Place the uncovered rack of LS tubes in the 3M Molecular Detection Heat Block Insert and heat for 15 ±1 minutes. During heating, the LS solution will change from pink (cool) to yellow (hot).

Samples that have not been properly heat treated during the assay lysis step may be considered a potential biohazard and should NOT be inserted into the 3M Molecular Detection Instrument.
10. Remove the uncovered rack of LS tubes from the heating block and allow to cool in the 3M Molecular Detection Chill Block Insert at least 5 minutes and a maximum of 10 minutes. The 3M Molecular Detection Chill Block Insert, used at ambient temperature without the Molecular Detection Chill Block Tray should sit directly on the laboratory bench. When cool, the lysis solution will revert to a pink color.
11. Remove the rack of LS tubes from the 3M Molecular Detection Chill Block Insert.



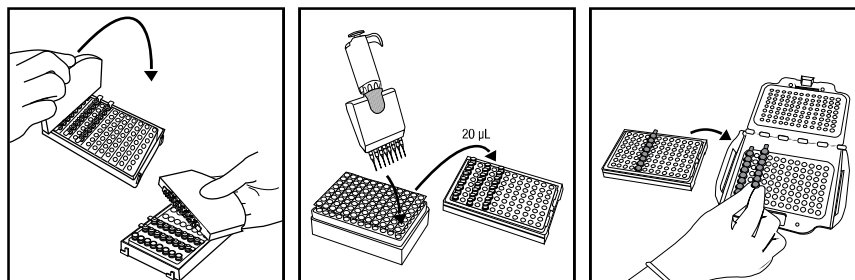
AMPLIFICATION

1. One Reagent tube is required for each sample and the NC.
 - 1.1 Reagent tube strips can be cut to desired tube number. Select the number of individual Reagent tubes or 8-tube strips needed.
 - 1.2 Place Reagent tubes in an empty rack.
 - 1.3 Avoid disturbing the reagent pellets from the bottom of the tubes.
2. Select 1 Reagent Control (RC) 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 lysate to Reagent tubes and RC tube as described below:

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

5. Use the 3M™ Molecular Detection Cap/Decap Tool-Reagent to decap the Reagent tubes—one Reagent tube strip at a time. Discard cap.
 - 5.1 Transfer 20 µL of Sample lysate from the upper ½ of the liquid (avoid precipitate) in the LS tube into corresponding Reagent tube. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.
 - 5.2 Repeat step 5.1 until individual Sample lysate has been added to a corresponding Reagent tube in the strip.
 - 5.3 Cover the Reagent tubes with the provided extra caps and use the rounded side of the 3M 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 step 5.1 as needed, for the number of samples to be tested.
 - 5.5 When all sample lysates have been transferred, repeat 4.1 to transfer 20 µL of NC lysate into a Reagent tube.
 - 5.6 Transfer **20 µL of NC lysate into a RC tube**. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.
6. Load capped tubes into a clean and decontaminated 3M Molecular Detection Speed Loader Tray. Close and latch the 3M Molecular Detection Speed Loader Tray lid.



7. Review and confirm the configured run in the 3M Molecular Detection Software.
8. Click the Start button in the software and select instrument for use. The selected instrument's lid automatically opens.
9. Place the 3M Molecular Detection Speed Loader Tray into the 3M Molecular Detection Instrument and close the lid to start the assay. Results are provided within 75 minutes, although positives may be detected sooner.
10. After the assay is complete, remove the 3M Molecular Detection Speed Loader Tray from the 3M 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 Reagent Control, Reagent, and 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 (if applicable), 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 3M Molecular Detection Assay 2 - *Listeria monocytogenes* amplification reagents have a “background” relative light unit (RLU).

In the rare event of any unusual light output, the algorithm labels this as “Inspect.” 3M 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

If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at www.3M.com/foodsafety or contact your local 3M representative or distributor.

REFERENCES:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

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”, 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 3M Molecular Detection Heat Block Insert and heat at $100 \pm 1^\circ\text{C}$ for 5 ± 1 minutes.
6. Remove the uncovered rack of LS tubes from the heating block and allow to cool in the 3M 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.

EXPLANATION OF PRODUCT LABEL SAMPLES



Caution or Warning, see product instructions.



Consult product instructions.



The lot in a box represents the lot number.



The hourglass is followed by a month and year which represent the expiration date.



Storage temperature limitations.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Instructions relatives au produit

Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* version 2 MDA2LM096

DESCRIPTION DU PRODUIT ET UTILISATION PRÉVUE

Le Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M™ version 2 est utilisé avec le Système de détection moléculaire 3M™ afin de détecter de manière rapide et spécifique la présence d'espèces de *Listeria* dans les aliments enrichis et les échantillons environnementaux.

Les Kits de détection moléculaire 3M utilisent la technique LAMP (loop-mediated isothermal amplification – amplification isotherme médiée par des boucles) afin d'amplifier rapidement les séquences d'acide nucléique de façon extrêmement spécifique et sensible, associée à la bioluminescence pour détecter l'amplification. Les résultats présumés positifs sont rapportés en temps réel tandis que les résultats négatifs sont affichés à la fin de l'essai. Les résultats présumés positifs doivent être confirmés par les méthodes usuelles ou en fonction des méthodes spécifiques répondant aux normes locales^(1, 2, 3).

Le Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 est destiné à être utilisé au sein de laboratoires, par des professionnels formés aux techniques s'y rapportant. 3M n'a pas étudié l'utilisation de ce produit dans des secteurs autres que l'alimentaire et les boissons. Par exemple, 3M n'a pas documenté ce produit dans le cadre de tests sur des échantillons d'eau ou de produits pharmaceutiques, cosmétiques, cliniques ou vétérinaires. Le Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 n'a pas été évalué en utilisant tous les protocoles de test ou toutes les souches de bactéries possibles.

Comme pour toutes les méthodes de test, la source du milieu d'enrichissement peut influencer les résultats. 3M a évalué le Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 avec un Bouillon demi-Fraser contenant du citrate de fer ammoniacal. Une formulation type de ce milieu est indiquée ci-dessous.

Formule type de la Base Bouillon demi-Fraser (g/l)

Chlorure de sodium	20 g
Phosphate de sodium dibasique anhydre*	9,6 g
Extrait de bœuf	5,0 g
Digestat pancréatique de caséine	5,0 g
Digestat peptique de tissus animaux	5,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Chlorure de lithium	3,0 g
Phosphate monobasique de potassium	1,35 g
Esculine	1,0 g
Acriflavine HCl	0,0125 g
Acide nalidixique	0,01 g
* Élément de substitution : phosphate de sodium dibasique dihydraté	12,0 g

Supplément pour Bouillon Fraser

(Ingrédients par flacon de 10 ml. Un flacon est ajouté à un litre de milieu de base.)

Citrate de fer ammoniacal 0,5 g/10 ml

pH final 7,2 ± 0,2 à 25 °C

L'Instrument de détection moléculaire 3M™ est conçu pour être utilisé avec des échantillons ayant été soumis à un traitement thermique pendant l'étape de lyse, procédé qui détruit les organismes présents dans l'échantillon. Les échantillons qui n'ont pas été soumis à un traitement thermique adéquat pendant l'étape de lyse peuvent être considérés comme potentiellement dangereux et ne doivent PAS être insérés dans l'Instrument de détection moléculaire 3M.

La conception et la fabrication 3M Sécurité Alimentaire sont certifiées ISO (International Organization for Standardization) 9001.

Le Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 contient 96 tests, décrits dans le tableau 1.

Tableau 1. Contenu du kit

Article	Identification	Quantité	Contenu	Commentaires
Tubes de solution de lyse (LS)	Solution rose en tubes transparents	96 (12 barrettes de 8 tubes)	580 µl de LS par tube	Placés sur portoir et prêts à l'emploi
Tubes de réactif de <i>Listeria monocytogenes</i>	Tubes jaunes	96 (12 barrettes de 8 tubes)	Mélange spécifique lyophilisé pour l'amplification et la détection	Prêts à l'emploi
Bouchons supplémentaires	Bouchons jaunes	96 (12 barrettes de 8 bouchons)		Prêts à l'emploi
Contrôle de réactif (RC)	Tubes « Flip-Top » transparents	16 (2 poches de 8 tubes individuels)	ADN témoin lyophilisé, mélange pour l'amplification et la détection	Prêt à l'emploi
Guide de démarrage rapide		1		

Le témoin négatif, non fourni dans le kit, est un milieu d'enrichissement stérile, par exemple le Bouillon demi-Fraser. Ne pas utiliser d'eau comme témoin négatif.

CONSIGNES DE SÉCURITÉ

L'utilisateur doit lire attentivement, comprendre et respecter toutes les consignes de sécurité fournies dans le mode d'emploi du Système de détection moléculaire 3M et du Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M 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.

⚠ MISE EN GARDE : Indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner des blessures mineures à modérées 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 *Listeria monocytogenes* 3M version 2 pour diagnostiquer des pathologies chez les humains ou les animaux.

La méthode utilisant un Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 peut générer des taux de *Listeria monocytogenes* suffisamment élevés pour provoquer la mise au monde d'un enfant mort-né ou le décès de femmes enceintes ou de personnes immunocompromises, si ces dernières y sont exposées.

L'utilisateur doit former son personnel de manière appropriée aux techniques d'analyses actuelles : par exemple, les bonnes pratiques de laboratoire et les normes ISO 17025⁽⁴⁾ ou ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Suivre le protocole et réaliser les analyses exactement comme indiqué dans les instructions relatives au produit.
- Conserver le Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 conformément aux indications sur l'emballage et les instructions relatives au produit.
- Toujours utiliser le Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 avant la date de péremption.
- Utiliser le Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 avec des aliments et des échantillons environnementaux ayant été validés en interne ou par une tierce partie.
- N'utiliser le Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 qu'avec des surfaces, des désinfectants, des protocoles et des souches bactériennes ayant été validés en interne ou par une tierce partie.
- En cas d'échantillon environnemental contenant un tampon neutralisant avec complexe d'aryle sulfonate, effectuer une dilution de 1:2 avant de procéder au test (1 volume d'échantillon dans 1 volume de bouillon d'enrichissement stérile). Les produits de manipulation d'échantillons 3MTM contenant un tampon neutralisant sont les suivants : BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB et HS119510NB.

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

- Il est fortement conseillé d'informer le personnel féminin du laboratoire quant au risque pour le fœtus en développement en cas d'infection de la mère à la suite d'une exposition à la *Listeria monocytogenes*.
- Effectuer les analyses bactériologiques dans un laboratoire doté du matériel nécessaire et sous la supervision de professionnels qualifiés.
- Toujours respecter les consignes de sécurité standard du laboratoire, et porter des tenues et lunettes de protection adaptées lorsque les réactifs et les échantillons contaminés sont manipulés.
- Éviter tout contact avec le contenu du milieu d'enrichissement et les tubes de réactif après l'amplification.
- Éliminer les échantillons enrichis conformément aux normes actuelles du secteur.

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

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

Afin de réduire les risques de pollution environnementale :

- Se conformer aux normes actuelles du secteur quant à l'élimination des déchets contaminés.

⚠ MISE EN GARDE

- 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 3MTM (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 3M.

AVIS

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

- 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.

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

- Ne jamais ouvrir les tubes après 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.

Consulter la Fiche de données de sécurité pour obtenir des informations supplémentaires et connaître la réglementation locale relative à l'élimination.

Si vous avez des questions concernant des applications ou procédures spécifiques, veuillez consulter notre site Internet à l'adresse www.3M.com/foodsafety ou contacter votre représentant ou distributeur 3M local.

LIMITATION DE GARANTIE/LIMITES DE RECOURS

SAUF SI EXPRESSÉMENT ÉTABLI DANS LA SECTION DE GARANTIE LIMITÉE D'UN EMBALLAGE DE PRODUIT INDIVIDUEL, 3M 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 de Sécurité Alimentaire 3M, 3M 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 3M dans un délai de soixante jours et le produit renvoyé au fournisseur. Veuillez appeler le Service clientèle (1-800-328-1671 aux États-Unis) ou votre représentant 3M en produits de microbiologie pour obtenir une autorisation de renvoi.

LIMITATION DE RESPONSABILITÉ DE 3M

3M 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 3Ms ne sera engagée au-delà du prix d'achat du produit prétendu défectueux.

RESPONSABILITÉ DE L'UTILISATEUR

Il incombe aux clients et aux utilisateurs de connaître les instructions et les informations. Veuillez visiter notre site www.3M.com/foodsafety pour consulter les instructions les plus récentes ou contacter votre représentant ou distributeur 3M.

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

Il incombe à l'utilisateur de sélectionner une méthode d'analyse pour évaluer un nombre suffisant d'échantillons avec les matrices et les épreuves microbiennes appropriées afin de garantir que la méthode d'analyse réponde aux critères de l'utilisateur.

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 avec n'importe quelle méthode de test, les résultats obtenus avec ce produit ne constituent pas une garantie de la qualité des matrices ou des processus testés.

Dans le but d'aider les clients à évaluer la méthode pour différentes matrices alimentaires, 3M a élaboré le kit de Contrôle de matrice pour système de détection moléculaire 3M™. Lorsque cela est nécessaire, utiliser le Contrôle de matrice (MC) pour déterminer si la matrice peut avoir un impact sur les résultats du Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2. Tester plusieurs échantillons représentatifs de la matrice, c.-à-d. des échantillons d'origines différentes, au cours de toute période de validation lors de l'adoption de la méthode 3M ou dans le cadre d'analyses de nouvelles matrices ou de matrices inconnues ou ayant été soumises à des modifications de matières premières ou de processus.

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

STOCKAGE ET MISE AU REBUT

Conserver le Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Conserver le kit à l'abri de la lumière au cours du stockage. 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 *Listeria monocytogenes* 3M 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 *Listeria monocytogenes* 3M version 2 contiennent des éléments pathogènes. Lorsque l'analyse est terminée, suivre les normes actuelles du secteur pour l'élimination des déchets contaminés. Consulter la Fiche de données de sécurité pour obtenir des informations supplémentaires et connaître la réglementation locale relative à l'élimination.

INSTRUCTIONS D'UTILISATION

Suivre attentivement toutes les instructions. Le non-respect des instructions peut entraîner des résultats inexacts.

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

ENRICHISSEMENT DE L'ÉCHANTILLON

Le tableau 2 fournit des indications pour l'enrichissement des échantillons alimentaires et environnementaux. Il incombe à l'utilisateur de valider des protocoles d'échantillonnage ou des proportions de dilution différents pour garantir que cette méthode d'analyse est conforme à ses critères.

Aliments

1. Laisser le milieu d'enrichissement avec Bouillon demi-Fraser (avec citrate de fer ammoniacal) s'équilibrer à la température ambiante du laboratoire.
2. Mélanger de manière aseptique le milieu d'enrichissement et l'échantillon conformément au tableau 2. Pour tous les échantillons carnés et à forte teneur en particules, il est recommandé d'utiliser des sacs avec filtre.

- Homogénéiser soigneusement par mélange, par digestion ou à la main pendant $2 \pm 0,2$ minutes. Incuber à 37 ± 1 °C conformément au tableau 2.
- Pour les produits laitiers crus, transférer 0,1 ml du premier enrichissement dans 10 ml de bouillon Fraser. Incuber à 37 ± 1 °C pendant 20 à 24 heures.

Échantillons environnementaux

Pour prélever les échantillons, il est possible d'utiliser une éponge hydratée au moyen d'une solution neutralisante afin d'éviter les effets des produits désinfectants. 3M recommande d'utiliser une éponge en cellulose sans biocide. Pour la solution neutralisante, vous pouvez utiliser par exemple le bouillon neutralisant (D/E) ou le bouillon Lethen Dey Engley. Il est recommandé de désinfecter la zone après l'échantillonnage.

AVERTISSEMENT : en cas de recours à une éponge humidifiée à l'aide d'un tampon neutralisant (NB) contenant un complexe d'aryle sulfonate, diluer l'échantillon environnemental enrichi dans 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, qui entraînent la libération de produits contaminés.

La zone d'échantillonnage utilisée pour vérifier la présence ou non du pathogène doit faire au moins 100 cm² (10 x 10 cm). Dans le cas de l'échantillonnage au moyen d'une éponge, couvrir toute la surface dans les deux sens (de gauche à droite puis de haut en bas) ou bien prélever des échantillons environnementaux selon le protocole d'échantillonnage actuel ou conformément aux normes du Bacteriological Analytical Manual (Manuel analytique bactériologique – BAM) de la FDA⁽¹⁾, au Microbiology Laboratory Guideline (Guide du laboratoire de microbiologie – MLG) du Food Safety and Inspection Service (Service d'inspection chargé de la sécurité des produits alimentaires – FSIS) du US Department of Agriculture (ministère de l'Agriculture des États-Unis – USDA)⁽²⁾ ou ISO 18593⁽⁶⁾.

- Laisser le milieu d'enrichissement avec Bouillon demi-Fraser (avec citrate de fer ammoniacal) s'équilibrer à la température ambiante du laboratoire.
- Mélanger de manière aseptique le milieu d'enrichissement et l'échantillon, conformément au tableau 2.
- Homogénéiser soigneusement par mélange, par digestion ou à la main pendant $2 \pm 0,2$ minutes. Incuber à 37 ± 1 °C pendant 24 à 30 heures.

Tableau 2. Protocoles d'enrichissement au moyen d'un enrichissement avec Bouillon demi-Fraser

Matrice de l'échantillon	Taille de l'échantillon	Volume du bouillon d'enrichissement (ml)	Température d'enrichissement (°C)	Durée d'enrichissement (h)				
Viandes, volaille, fruits de mer et poisson soumis à traitement thermique, cuits et salaisonnés Produits laitiers soumis à traitement thermique/ pasteurisés Fruits et légumes Produits alimentaires à plusieurs composants	25 g	225	37	24-30				
Échantillons environnementaux	1 éponge	100 ou 225	37	24-30				
	1 écouvillon	10	37	24-30				
Viande crue, volaille, fruits de mer, poisson	25 g	475	37	28-32				
Matrice de l'échantillon	Premier enrichissement (Bouillon demi-Fraser)				Second enrichissement (Bouillon Fraser)			Volume d'échantillon d'analyse ^(a)
	Taille de l'échantillon	Volume du bouillon d'enrichissement (ml)	Température d'enrichissement (°C)	Durée d'enrichissement (h)	Taille de l'échantillon	Température d'enrichissement (°C)	Durée d'enrichissement (h)	
Produits laitiers crus	25 g	225	37	20-24	Transférer 0,1 ml dans 10 ml de Bouillon Fraser	37	20-24	10 µl

(a) Volume d'échantillon transféré dans les tubes de solution de lyse. Se référer à l'étape 4.6 de la section Lyse.

PRÉPARATION DU PLATEAU DE CHARGEMENT RAPIDE POUR SYSTÈME DE DÉTECTION MOLÉCULAIRE 3M™

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

PRÉPARATION DU SUPPORT DE BLOC REFROIDISSANT POUR SYSTÈME DE DÉTECTION MOLÉCULAIRE 3M™

Placer le Bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M™ sur le plan de travail du laboratoire (le Plateau de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M™ n'est pas utilisé). Utiliser le bloc refroidissant à la température ambiante du laboratoire (20-25 °C).

PRÉPARATION DU SUPPORT DE BLOC CHAUFFANT POUR SYSTÈME DE DÉTECTION MOLÉCULAIRE 3M™

Placer le Support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M™ dans une unité de traitement thermique à sec. Allumer l'unité de traitement thermique à sec et régler la température afin que le Support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M 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 3M 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 3M afin de vérifier que sa température est de 100 ± 1 °C.

PRÉPARATION DE L'INSTRUMENT DE DÉTECTION MOLÉCULAIRE 3M™

1. Lancer le Logiciel de détection moléculaire 3M™ et ouvrir une session.
2. Mettre l'Instrument de détection moléculaire 3M sous tension.
3. Créer ou modifier une analyse en saisissant les données pour chaque échantillon. Pour plus de détails, consulter le manuel d'utilisation du Système de détection moléculaire 3M.

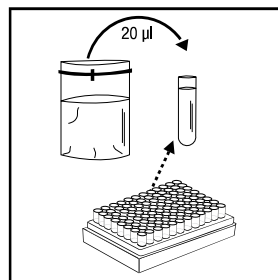
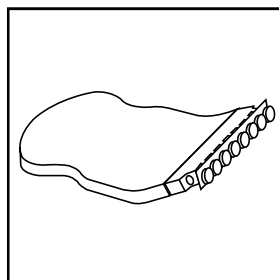
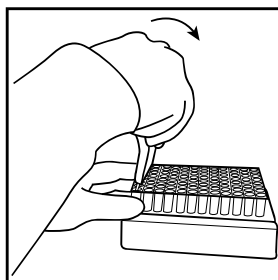
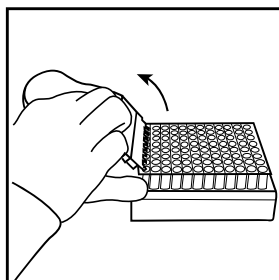
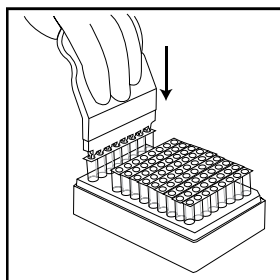
REMARQUE : l'Instrument de détection moléculaire 3M doit être porté et maintenu à une température de 60 °C avant l'insertion du Plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire 3M, dans lequel sont placés les tubes de réactif. Cette étape de chauffage prend environ 20 minutes ; pendant 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 devient VERTE.

LYSE

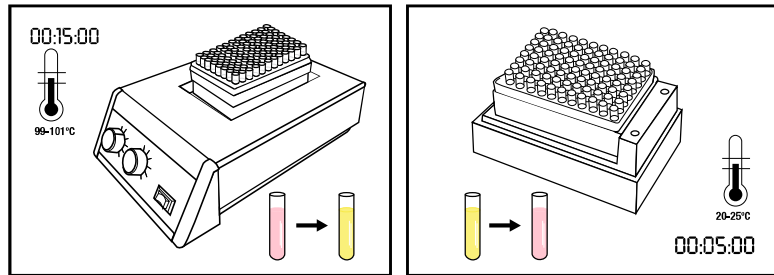
1. Laisser les tubes de solution de lyse (LS) se réchauffer en plaçant le support à température ambiante (20-25 °C) pendant une nuit (16-18 heures). Il est également possible d'amener les tubes de LS à température ambiante en les plaçant sur le plan de travail du laboratoire pendant au moins 2 heures, en incubant les tubes de LS dans un incubateur à 37 ± 1 °C pendant 1 heure ou en les plaçant dans une unité de traitement thermique à sec double bloc pendant 30 secondes à 100 °C.
2. Retourner les tubes recouverts d'un bouchon afin de mélanger, jusqu'à 4 heures avant utilisation.
3. Retirer le bouillon d'enrichissement de l'incubateur.
4. Il est nécessaire d'utiliser un tube de LS pour chaque échantillon et pour l'échantillon témoin négatif (NC) (milieu d'enrichissement stérile).
 - 4.1 Les barrettes de tubes de LS peuvent être coupées de manière à obtenir le nombre de tubes de LS souhaité. Sélectionner le nombre de tubes de LS individuels ou de barrettes de 8 tubes nécessaire. Placer les tubes de LS dans un portoir vide.
 - 4.2 Pour éviter toute contamination croisée, ouvrir les barrettes de tubes de LS une à une et utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque étape de transfert.
 - 4.3 Transférer l'échantillon enrichi dans les tubes de LS comme indiqué ci-dessous :

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

- 4.4 Ouvrir les barrettes de tubes de LS une à une à l'aide de l'Outil d'ouverture/fermeture pour système de détection moléculaire 3M™ – Lyse.
- 4.5 Jeter le bouchon du tube de LS. Si le lysat doit être soumis à un nouveau test ; placer les bouchons dans un récipient propre pour réapplication après la lyse. Pour le traitement du lysat conservé, voir l'annexe A.
- 4.6 Transférer 20 µl d'échantillon dans un tube de LS sauf indication contraire mentionnée dans le tableau de protocole.
5. Répéter l'étape 4.2 jusqu'à ce que chaque échantillon individuel ait été ajouté au tube de LS correspondant dans la barrette.



6. Reprendre les étapes 4.1 à 4.6 au besoin, en fonction du nombre d'échantillons à tester.
7. Une fois tous les échantillons transférés, transférer **20 µl de NC** (milieu d'enrichissement stérile, p. ex. Bouillon demi-Fraser) dans un tube de LS. Ne pas utiliser d'eau comme NC.
8. Vérifier que la température du Support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M est de 100 ± 1 °C.
9. Placer le portoir non couvert de tubes de LS dans le Support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M et chauffer pendant 15 ± 1 minutes. Lors du chauffage, la solution LS passera de rose (froide) à jaune (chaude).
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 3M.
10. Retirer le portoir non couvert de tubes de LS du bloc chauffant et laisser refroidir dans le Support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M entre 5 et 10 minutes. Utilisé à température ambiante sans le Plateau de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire, le Support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M doit être posé directement sur le plan de travail du laboratoire. Une fois froide, la solution de lyse retrouvera une couleur rose.
11. Retirer le couvercle des tubes de LS du Support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M.

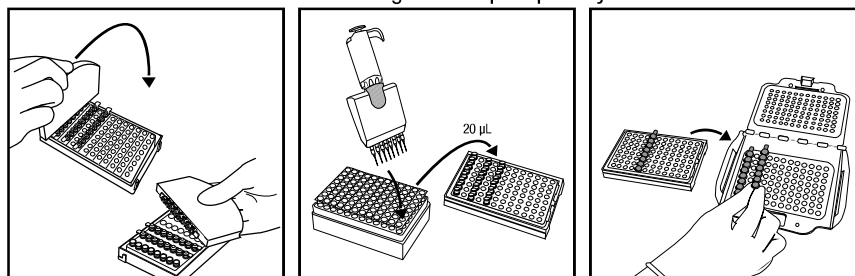


AMPLIFICATION

1. Il est nécessaire d'utiliser un tube de réactif pour chaque échantillon et pour le NC.
 - 1.1 Les barrettes de tubes de réactif peuvent être coupées de manière à obtenir le nombre de tubes souhaité. Sélectionner le nombre de tubes de réactif individuels ou de barrettes de 8 tubes nécessaire.
 - 1.2 Placer les tubes de réactif sur un support vide.
 - 1.3 Éviter de toucher les pastilles réactives se trouvant au fond des tubes.
2. Sélectionner 1 tube de Contrôle de réactif (RC) et le placer dans le support.
3. Afin d'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 les lysats dans les tubes de réactif et le tube de RC comme indiqué ci-dessous :

Transférer **tout d'abord** chaque lysat dans les tubes de réactif individuels, puis transférer le NC. Hydrater **en dernier** le tube de RC.

5. Ouvrir les barrettes de tubes de réactif une à une à l'aide de l'Outil d'ouverture/fermeture pour système de détection moléculaire 3M™ – Réactif. Jeter les bouchons.
 - 5.1 Transférer 20 µl de lysat d'échantillon dans le tube de LS vers le tube de réactif correspondant. Incliner la pipette pour ne pas agiter les pastilles. Mélanger en effectuant 5 cycles d'aspiration/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 correspondant dans la barrette.
 - 5.3 Refermer les tubes de réactif avec les bouchons supplémentaires fournis et utiliser le côté arrondi de l'Outil d'ouverture/fermeture pour système de détection moléculaire 3M – Réactif afin d'exercer une pression d'avant en arrière pour s'assurer que le tube est correctement fermé.
 - 5.4 Répéter l'étape 5.1 au besoin, en fonction du nombre d'échantillons à tester.
 - 5.5 Lorsque tous les lysats d'échantillons ont été transférés, répéter l'étape 4.1 afin de transférer 20 µl de lysat de NC dans un tube de réactif.
 - 5.6 Transférer **20 µl de lysat de NC dans un tube de RC**. Incliner la pipette pour ne pas agiter les pastilles. Mélanger en effectuant 5 cycles d'aspiration/refoulement avec la pipette.
6. Charger les tubes recouverts d'un bouchon dans un Plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire 3M propre et décontaminé. Fermer et verrouiller le couvercle du Plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire 3M.





7. Examiner et confirmer l'analyse configurée sur le Logiciel de détection moléculaire 3M.
8. Cliquer sur le bouton « 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 3M dans l'Instrument de détection moléculaire 3M et fermer le couvercle pour lancer l'essai. Les résultats sont obtenus en 75 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 3M de l'Instrument de détection moléculaire 3M 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 la contamination croisée, ne jamais ouvrir les tubes de réactif contenant de l'ADN amplifié. Ceci comprend les tubes de Contrôle de réactif, de Réactif et de Contrôle de matrice. 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, et ce à l'écart de la zone de préparation des analyses.

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

Un algorithme interprète la courbe de résultats lumineuse provenant de la détection de l'amplification de l'acide nucléique. Les résultats sont automatiquement analysés par le logiciel et sont codés par couleur en fonction du résultat. Le logiciel identifie les résultats positifs ou négatifs en analysant un certain nombre de paramètres uniques en ce qui concerne la courbe. Les résultats présumés positifs sont rapportés en temps réel tandis que les résultats négatifs ou à vérifier sont affichés à la fin de l'essai.

Les résultats présumés positifs doivent être confirmés selon les procédures standard des laboratoires ou en suivant la confirmation de la méthode de référence appropriée^(1, 2, 3), en commençant par effectuer un transfert du premier enrichissement dans les bouillons de second enrichissement (le cas échéant), puis un étalement et une confirmation des isolats au moyen des méthodes biochimiques et sérologiques appropriées.

REMARQUE : même un échantillon négatif n'obtiendra pas un résultat nul : en effet, le système et les réactifs d'amplification du Kit de détection moléculaire *Listeria monocytogenes* 3M version 2 disposent d'une unité relative de lumière (URL) « de fond ».

Dans le cas peu probable d'un résultat lumineux inhabituel, l'algorithme considérera ce dernier comme « À vérifier ». 3M recommande à l'utilisateur de recommencer l'essai pour tout échantillon considéré comme « À vérifier ». Si le résultat continue à être « À vérifier », passer au test de confirmation en utilisant les méthodes usuelles ou suivant les méthodes spécifiques répondant aux normes locales.

Si vous avez des questions concernant des applications ou procédures spécifiques, veuillez consulter notre site Internet à l'adresse www.3M.com/foodsafety ou contacter votre représentant ou distributeur 3M local.

RÉFÉRENCES :

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

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 « 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 de lysats mélangés dans le Support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M et chauffer à 100 ± 1 °C pendant 5 ± 1 minutes.
6. Retirer le portoir non couvert de tubes de LS du bloc chauffant et laisser refroidir dans le Support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M entre 5 et 10 minutes.
7. Poursuivre le protocole à la section « Amplification » détaillée ci-dessus.



EXPLICATION DES SYMBOLES PRÉSENTS SUR L'ÉTIQUETTE DU PRODUIT



Mise en garde ou Avertissement, voir instructions du produit.



Consulter les instructions relatives au produit.



Le mot « LOT » encadré représente le numéro de lot.



Le sablier est suivi du mois et de l'année correspondant à la date de péremption.



Températures limites de conservation.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Gebrauchsanweisungen

Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis MDA2LM096

BESCHREIBUNG UND VERWENDUNGSZWECK DES PRODUKTS

Der 3M™ Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis ist für den Einsatz mit dem 3M™ Molekularen Detektionssystem zur schnellen und genauen Bestimmung von Listerien-Spezies in angereicherten Lebensmittel- und Umweltproben bestimmt.

3M Molekulare Detektion – Nachweise verwenden die mittels eines Loops initiierte isotherme Amplifikation, um in Kombination mit der Biolumineszenz die Amplifikation von Nukleinsäuresequenzen mit hoher Spezifität, Sensitivität und Geschwindigkeit zu bestimmen. Die mutmaßlich positiven Ergebnisse werden in Echtzeit erstellt, während negative Ergebnisse erst nach Abschluss des Tests dargestellt werden. Die mutmaßlich positiven Ergebnisse sollten mithilfe eines Testverfahrens Ihrer Wahl oder gemäß der jeweils geltenden Richtlinien bestätigt werden ^(1, 2, 3).

Der 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis ist für den Gebrauch in Labors bestimmt und muss von in Laborverfahren geschultem Fachpersonal angewendet werden. 3M verfügt über keine Daten zur Anwendung dieses Produkts in anderen Industrien als der Lebensmittel- und Getränkeindustrie. Zum Beispiel verfügt 3M über keine Daten zur Verwendung dieses Produkts mit Wasser-, Pharmazeutika-, Kosmetika- oder klinischen und tiermedizinischen Proben. Der 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis wurde nicht für alle möglichen Verfahrensprotokolle oder mit allen möglichen Bakterienstämmen bewertet.

Wie bei allen Testverfahren können die Ergebnisse durch die Quelle des Anreicherungsmediums beeinflusst werden. 3M hat den 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis mit der Demi Fraser Bouillon mit Eisenammoniumcitrat untersucht. Eine typische Zusammensetzung dieses Mediums ist nachfolgend aufgeführt.

Typische Zusammensetzung der Demi Fraser Basis Bouillon (g/l)

Natriumchlorid	20 g
Natriumphosphat, sekundär, anhydrisch*	9,6 g
Rindfleischextrakt	5,0 g
Pankreasehydrolysat aus Kasein	5,0 g
Pepton aus Tiergewebe	5,0 g
Hefeextrakt	5,0 g
Lithiumchlorid	3,0 g
Kaliumphosphat, primär	1,35 g
Aesculin	1,0 g
Acriflavinhydrochlorid	0,0125 g
Nalidixinsäure	0,01 g
* Ersatz: Dinatriumhydrogendiphosphat	12,0 g

Fraser Bouillon-Supplement

(Bestandteile je 10-ml-Fläschchen. Ein Fläschchen wird einem Liter Basismedium hinzugefügt.)

Eisenammoniumcitrat 0,5 g/10 ml

Finaler pH-Wert 7,2 ± 0,2 bei 25 °C

Das 3M™ Molekulare Detektion – Gerät ist für die Anwendung mit Proben bestimmt, die während der Lyse im Rahmen des Testverfahrens wärmebehandelt worden sind, wodurch die in der Probe vorhandenen Organismen zerstört werden sollen. Diejenigen Proben, die während der Lyse nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt worden sind, tragen möglicherweise ein biologisches Risiko und sollten NICHT in das 3M Molekulare Detektion – Gerät eingesetzt werden.

3M Food Safety hat für die Bereiche Entwicklung und Fertigung die Zertifizierung ISO 9001 der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erhalten.

Der 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis enthält 96 Testverfahren, die in Tabelle 1 beschrieben werden.

Tabelle 1. Inhalt des Sets

Artikel	Kennzeichnung	Menge	Inhalt	Anmerkungen
Gefäße mit Lyselösung (LS)	Rosafarbene Lösung in transparenten Gefäßen	96 (12 Streifen in 8 Gefäßen)	580 µl LS pro Gefäß	Abgefüllt und gebrauchsfertig
<i>Listeria monocytogenes</i> -Reagenzgefäße	Gelbe Gefäße	96 (12 Streifen in 8 Gefäßen)	Lyophilisierte spezifische Amplifikations- und Detektionsmischung	Gebrauchsfertig
Zusätzliche Kappen	Gelbe Kappen	96 (12 Streifen in 8 Gefäßen)		Gebrauchsfertig
Reagenzienkontrolle (RC)	Durchsichtige Kippgefäße	16 (2 Beutel mit 8 einzelnen Gefäßen)	Lyophilisierte Kontroll-DNS, Amplifikations- und Detektionsmatrix	Gebrauchsfertig
Kurzanleitung		1		

Die Negativkontrolle (nicht im Set enthalten) ist ein steriles Anreicherungsmedium, z. B. Demi Fraser Bouillon. Als Negativkontrolle kein Wasser verwenden.

SICHERHEIT

Der Anwender sollte sämtliche in der Gebrauchsanleitung des 3M Molekulare Detektionssystems und des 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweises aufgeführten Sicherheitshinweise gelesen und verstanden haben. Bewahren Sie diese Sicherheitshinweise auf, um später auf sie zurückgreifen zu können.

- ⚠ **WARNHINWEIS:** Bezeichnet eine Gefahrensituation, die – wenn sie nicht vermieden wird – zum Tode oder schweren Verletzungen und/oder Sachschaden führen kann.
- ⚠ **VORSICHT:** Bezeichnet eine Gefahrensituation, die – wenn sie nicht vermieden wird – zu geringfügigen oder mittelschweren Verletzungen und/oder Sachschaden führen kann.
- HINWEIS:** Bezeichnet eine potenzielle Gefahrensituation, die – wenn sie nicht vermieden wird – zu Sachschäden führen kann.

⚠ WARNUNG

Den 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis nicht zur Diagnose von Erkrankungen bei Menschen oder Tieren einsetzen.

Beim 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweisverfahren können *Listeria monocytogenes* in ausreichender Menge entstehen, um im Fall einer Exposition bei Schwangeren und immungeschwächten Personen Totgeburten bzw. Todesfälle zu verursachen.

Der Anwender muss sein Personal in den entsprechenden Testmethoden unterweisen: z. B. in den Grundsätzen der Guten Laborpraxis ISO 17025⁽⁴⁾ oder ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Befolgen Sie das Protokoll und führen Sie die Tests genau wie in den Produktanweisungen angegeben durch.
- Lagern Sie den 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis wie auf der Packung und in der Gebrauchsanweisung beschrieben.
- Verwenden Sie den 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis stets vor Ablauf des Verfalldatums.
- Verwenden Sie den 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis mit Lebensmittel- und Umweltpuben, die intern oder durch Dritte validiert wurden.
- Verwenden Sie den 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweis nur mit Oberflächen, Desinfektionsmitteln, Protokollen und Bakterienstämmen, die intern oder durch Dritte validiert wurden.
- Bei einer Umweltprobe, die Neutralisationspuffer mit einem Arylsulfonat-Komplex enthält, nehmen Sie vor dem Test eine Verdünnung im Verhältnis von 1:2 vor (1 Teil Probe mit 1 Teil steriler Anreicherungsbouillon). 3M™ Produkte zur Probenhandhabung, die einen Neutralisationspuffer enthalten: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB und HS119510NB.

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

- Es wird dringend empfohlen, weibliches Laborpersonal über die Risiken aufzuklären, die bei Schwangeren infolge einer Exposition der Mutter gegenüber *Listeria monocytogenes* für den Fötus entstehen.
- Führen Sie die Testverfahren mit Pathogenen in einem entsprechend ausgerüsteten Labor und unter der Aufsicht von geschultem Fachpersonal durch.
- Befolgen Sie stets die üblichen Labor-Sicherheitsmaßnahmen und tragen Sie bei der Handhabung von Reagenzien und kontaminierten Proben angemessene Schutzkleidung und geeigneten Augenschutz.
- Vermeiden Sie nach der Amplifikation den Kontakt mit dem Anreicherungsmedium und den Reagenzgefäßen.
- Die angereicherten Proben sind gemäß den gültigen Branchennormen zu entsorgen.

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).

Maßnahmen zur Reduzierung der Risiken im Zusammenhang mit Umweltverschmutzung:

- Beachten Sie die gültigen Branchennormen für die Entsorgung von kontaminierten Abfällen.

⚠ VORSICHT

- 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 3M™ 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 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatzes platziert werden.

HINWEIS

Zur Verminderung von Kreuzkontaminationsrisiken bei der Vorbereitung des Tests:

- Die Verwendung von sterilen, hochreinen Pipettenspitzen mit Feuchtigkeitsschutz (Filter) wird empfohlen.
- 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.

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

- Öffnen Sie die Gefäße niemals nach der Amplifikation.
- Entfernen Sie die kontaminierten Gefäße, indem Sie sie 1 Stunde lang in ausreichender Entfernung vom Vorbereitungsbereich in einer 1–5%igen Haushaltsbleichmittellösung (V/V in Wasser) einweichen.

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

Sollten Sie Fragen zu bestimmten Anwendungen oder Verfahren haben, besuchen Sie unsere Website unter www.3M.com/foodsafety oder wenden sich an den lokalen 3M Verkaufsvertreter oder Händler.

HAFTUNGSBESCHRÄNKUNGEN / BESCHRÄNKTE RECHTSMITTEL

AUSSER ES WIRD AUSDRÜCKLICH ANDERS IM ABSCHNITT DER HAFTUNGSBESCHRÄNKUNGEN DER VERPACKUNG DES JEWEILIGEN PRODUKTS ANGEZEIGT, LEHNT 3M ALLE AUSDRÜCKLICHEN UND STILLSCHWEIGENDEN GARANTIE, EINSCHLIESSLICH, JEDOCH NICHT BESCHRÄNKT AUF, DIE GEWÄHRLEISTUNG DER MARKTGÄNGIGKEIT ODER DER EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK AB. Sollte sich ein 3M Lebensmittelsicherheitsprodukt als defekt herausstellen, wird es von 3M oder einem autorisierten Vertragshändler, nach eigenem Ermessen ersetzt oder der Kaufpreis zurückerstattet. Gewährleistungsansprüche bestehen nicht. Sie sind verpflichtet, 3M umgehend innerhalb von sechzig Tagen, nachdem die mutmaßlichen Defekte am Produkt festgestellt wurden, davon zu informieren und das Produkt an 3M zurückzusenden. Bitte rufen Sie zwecks „Verfahren der Warenrückgabe“ den Kundendienst (1-800-328-1671 in den USA) oder Ihren autorisierten Vertreter für 3M Lebensmittelsicherheitsprodukte an.

HAFTUNGSBESCHRÄNKUNGEN

3M 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 der 3M den Kaufpreis des angeblich defekten Produkts.

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.3M.com/foodsafety oder wenden Sie sich an Ihren lokalen 3M Verkaufsvertreter oder Händler.

Bei der Auswahl einer Testmethode ist zu beachten, dass externe Faktoren wie Probennahme, Testprotokoll, Probenaufbereitung, Handhabung und Labortechnik 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 3M Lebensmittelsicherheitsprodukten erhaltenen Ergebnisse keine Garantie für die Qualität der untersuchten Matrizen oder Prozesse dar.

Als Unterstützung von Kunden bei der Validierung der Methode für verschiedene Lebensmittelmatrizen hat 3M das Set 3M™ Molekulare Detektion – Matrixkontrolle entwickelt. Verwenden Sie bei Bedarf die Matrix-Kontrolle (MC), um zu bestimmen, ob die Matrix in der Lage ist, die Ergebnisse des 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweises zu beeinträchtigen. Testen Sie mehrere für die Matrix repräsentative Proben, d. h. Proben unterschiedlicher Herkunft, während einer Validierungsphase, wenn die 3M Methode zum Einsatz kommt oder beim Testen neuer oder unbekannter Matrizen oder Matrizen, die Rohmaterial- oder Verfahrensänderungen durchlaufen haben.

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

LAGERUNG UND ENTSORGUNG

Lagern Sie den 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* 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 wieder verschließbaren 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 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* 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 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweises pathogene Stoffe enthalten. Beachten Sie nach Abschluss der Testverfahren die gültigen Branchennormen für die Entsorgung von kontaminierten Abfällen. Weitere Informationen sowie die jeweils geltenden Richtlinien zur Entsorgung entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt.

GEBRAUCHSANWEISUNG

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

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

PROBENANREICHERUNG

Tabelle 2 enthält Richtlinien für das Anreichern von Lebensmittel- und Umweltpuben. Der Anwender ist selbst für die Validierung anders gestalteter Probennahmeprotokolle oder Verdünnungsverhältnisse verantwortlich, durch die sichergestellt werden muss, dass dieses Testverfahren den Anforderungen entspricht.

Lebensmittel

1. Das Demi Fraser Bouillon-Anreicherungsmedium (enthält Eisenammoniumcitrat) sollte vor der Testdurchführung Raumtemperatur erreicht haben.

2. Vereinen Sie das Anreicherungsmedium und die Probe entsprechend Tabelle 2 gemäß einem aseptischen Verfahren. Bei der Handhabung von Fleisch- und partikelreichen Proben wird die Verwendung von Filterbeuteln empfohlen.
3. Homogenisieren Sie die Probe gründlich $2 \pm 0,2$ Minuten lang (Mischer, Stomacher oder per Hand). Inkubieren Sie sie gemäß Tabelle 2 bei 37 ± 1 °C.
4. Bei rohen Molkereiprodukten müssen 0,1 ml der Erstanreicherung in 10 ml einer Fraser-Bouillon pipettiert werden. Inkubieren Sie sie 20 bis 24 Stunden lang bei 37 ± 1 °C.

Umweltproben

Als Probennahmegerät kann ein mit Neutralisierungslösung benetzter Schwamm verwendet werden, um die Wirkung des Aseptikums auszuschalten. 3M empfiehlt die Verwendung eines biozidfreen Zelluloseschwamms. Als Neutralisierungslösung kann Dey-Engley (D/E)-Neutralisierungsbouillon oder Lethen-Bouillon verwendet werden. Es wird empfohlen, den Arbeitsbereich nach der Probennahme keimfrei zu machen.

WARNHINWEIS: Falls Sie zur Tränkung des Schwamms einen Neutralisationspuffer (NB) wählen, der einen Arylsulfonat-Komplex enthält, müssen Sie vor der Durchführung des Tests auf ein Verdünnungsverhältnis von 1:2 (1 Teil Probe mit 1 Teil steriler Anreicherungsbouillon) der angereicherten Umweltprobe achten, um die mit einem falsch negativen Ergebnis, welches zur Freigabe eines kontaminierten Produkts führen würde, einhergehenden Risiken zu senken.

Die empfohlene Größe des Probenahmebereichs zur Bestimmung eines Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins des Pathogens auf der Oberfläche muss mindestens 100 cm² (10 cm x 10 cm) betragen. Wird die Probe mit einem Schwamm genommen, dann decken Sie den gesamten Bereich ab, indem Sie den Schwamm in zwei Richtungen bewegen (von links nach rechts, dann nach oben und nach unten). Sammeln Sie Umweltproben gemäß Ihrem geltenden Protokoll für Probenahmen oder gemäß den Richtlinien BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ oder ISO 18593⁽⁶⁾.

1. Das Demi Fraser Bouillon-Anreicherungsmedium (enthält Eisenammoniumcitrat) sollte vor der Testdurchführung Raumtemperatur erreicht haben.
2. Vereinen Sie das Anreicherungsmedium und die Probe gemäß Tabelle 2 in einem aseptischen Verfahren.
3. Homogenisieren Sie die Probe gründlich $2 \pm 0,2$ Minuten lang (Mischer, Stomacher oder per Hand). Inkubieren Sie sie 24 bis 30 Stunden lang bei 37 ± 1 °C.

Tabelle 2: Anreicherungsprotokolle für die Demi Fraser Bouillon-Anreicherung

Probenmatrix	Probengröße	Menge der Anreicherungs- bouillon (ml)	Anreiche- rungstem- peratur (°C)	Anreiche- rungsdauer (h)				
Fleisch, Geflügel, Meeresfrüchte und Fisch wärmebehandelt, gekocht, geräuchert Wärmebehandelte/ pasteurisierte Molkereiprodukte Gemüse und andere landwirtschaftliche Erzeugnisse Mehrkomponenten- Lebensmittel	25 g	225	37	24–30				
Umweltproben	1 Schwamm	100 oder 225	37	24–30				
	1 Abstrich	10	37	24–30				
Rohes Fleisch, Geflügel, Meeresfrüchte, Fisch	25 g	475	37	28–32				
Probenmatrix	Erstanreicherung (Demi Fraser Bouillon)				Zweitanreicherung (Fraser Bouillon)			Proben- analyse- volumen ^(a)
	Probengröße	Menge der Anreicherungs- bouillon (ml)	Anreiche- rungstem- peratur (°C)	Anreiche- rungsdauer (h)	Probengröße	Anreiche- rungstempe- ratur (°C)	Anreiche- rungsdauer (h)	
Rohe Molkereiprodukte	25 g	225	37	20–24	0,1 ml in 10 ml Fraser Bouillon pipettieren	37	20–24	10 µl

(a) Volumen der Probe in die Lyselösung-Gefäße pipettieren. Siehe Schritt 4.6 im Abschnitt „Lyse“.

VORBEREITUNG DER 3M™ MOLEKULARE DETEKTION – BELADEHILFE

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

VORBEREITUNG DES 3M™ MOLEKULARE DETEKTION – KÜHLBLOCKEINSATZES

Setzen Sie den 3M™ Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz direkt auf die Laborbank; (der 3M™ Molekulare Detektion – Kühlblockträger wird nicht benötigt). Verwenden Sie den Kühlblockeinsatz bei Raumtemperatur (20–25 °C).

VORBEREITUNG DES 3M™ MOLEKULARE DETEKTION – HEIZBLOCKEINSATZES

Legen Sie den 3M™ Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz in ein Trocken-Blockheizgerät. Schalten Sie das Trocken-Blockheizgerät ein und stellen Sie die Temperatur für den 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz auf 100 ± 1 °C ein.

HINWEIS: Warten Sie je nach Heizgerät etwa 30 Minuten, bis der 3M 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 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die erforderliche Temperatur von 100 ± 1 °C erreicht hat.

VORBEREITUNG DES 3M™ MOLEKULARE DETEKTION – GERÄTS

1. Starten Sie die 3M™ Molekulare Detektion – Software und loggen Sie sich ein.
2. Schalten Sie das 3M Molekulare Detektion – Gerät ein.
3. Erstellen oder bearbeiten Sie für jede Probe einen Testdurchlauf. Weitere Details entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch zum 3M Molekularen Detektionssystem.

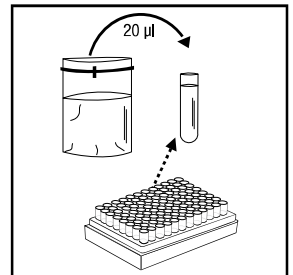
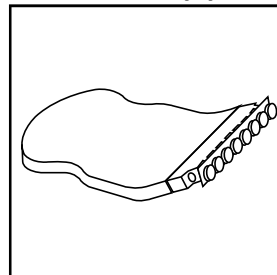
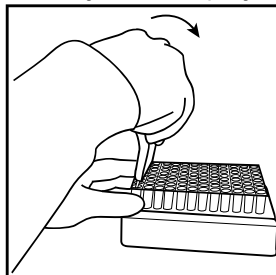
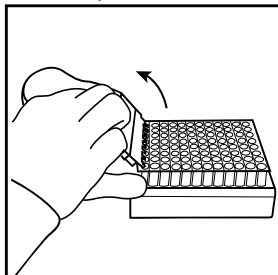
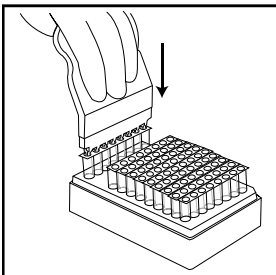
HINWEIS: Das 3M Molekulare Detektion – Gerät muss eine Mindesttemperatur von 60 °C erreicht haben, bevor die 3M Molekulare Detektion – Beladehilfe mit den Reaktionsgefäßen eingesetzt werden kann. Dieses Erwärmungsverfahren nimmt etwa 20 Minuten in Anspruch und wird durch eine ORANGEFARBENE Leuchte auf der Statusleiste des Geräts angezeigt. Sobald das Gerät einsatzbereit ist, wechselt die Leuchte der Statusleiste auf GRÜN.

LYSE

1. Lassen Sie die Lyselösung (LS) im Gefäßträger über Nacht (16–18 Stunden) bei Raumtemperatur (20–25 °C) aufwärmen. Um die LS-Gefäße auf Raumtemperatur zu erwärmen, können Sie sie für mindestens 2 Stunden auf die Laborbank stellen, die LS-Gefäße für 1 Stunde bei 37 ± 1 °C inkubieren oder sie für 30 Sekunden bei 100 °C in ein Trocken-Doppelblock-Heizgerät setzen.
2. Mischen Sie bis zu 4 Stunden vor Gebrauch die mit Kappen verschlossenen Gefäße.
3. Entfernen Sie die Anreicherungsbouillon aus dem Inkubator.
4. Für jede Probe und die Negativkontrolle (NC) (steriles Anreicherungsmedium) wird jeweils ein LS-Gefäß benötigt.
 - 4.1 Die Lysegefäßstreifen können auf die gewünschte Anzahl an Lysegefäßen zurechtgeschnitten werden. Bestimmen Sie die Anzahl der erforderlichen Lysegefäße oder 8-Gefäßstreifen. Setzen Sie die Lysegefäße in einen leeren Gefäßträger.
 - 4.2 Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, entkappen Sie jeweils nur einen Lysegefäßstreifen und verwenden Sie bei jeder Übertragung eine neue Pipette.
 - 4.3 Übertragen Sie die angereicherte Probe wie unten beschrieben auf die Lysegefäße:

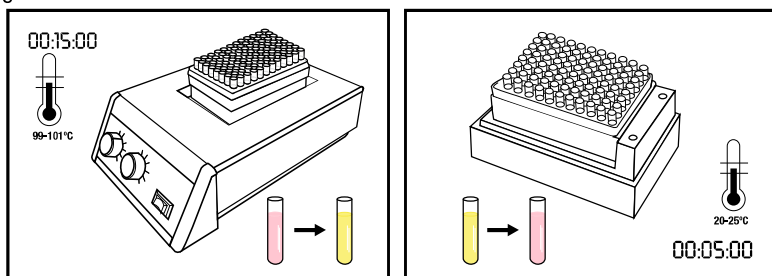
Übertragen Sie **zuerst** die angereicherten Proben jeweils einzeln in ein Lysegefäß. Übertragen Sie die NC **zuletzt**.

- 4.4 Entkappen Sie nacheinander die Lysegefäßstreifen mit dem 3M™ Molekulare Detektion – Cap/Decap-Werkzeug – Lyse.
 - 4.5 Entsorgen Sie die Kappen. Wenn noch Lysat für weitere Tests übrig bleibt, bewahren Sie die Kappen in einem sauberen Container auf, um sie nach der Lyse wieder aufzusetzen. Informationen zur Verarbeitung von nicht verwendetem Lysat finden Sie in Anhang A.
 - 4.6 Übertragen Sie 20 µl der Probe in ein LS-Gefäß sofern in der Protokolltabelle nichts anderes angegeben ist.
5. Wiederholen Sie den Schritt 4.2, bis jede einzelne Probe in ein zugeordnetes Lysegefäß im Streifen hineingegeben wurde.



6. Wiederholen Sie bei Bedarf die Schritte 4.1 bis 4.6 bei allen zu prüfenden Proben.

7. Sobald Sie alle Proben übertragen haben, übertragen Sie **20 µl der NC** (steriles Anreicherungsmedium, z. B. Demi Fraser Bouillon) in ein LS-Gefäß. Als Negativkontrolle kein Wasser verwenden.
 8. Überprüfen Sie, ob der 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die erforderliche Temperatur von $100 \pm 1^\circ\text{C}$ erreicht hat.
 9. Stellen Sie den unbedeckten Lysegefäßträger in den 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz und erwärmen Sie ihn 15 ± 1 Minuten lang. Dabei ändert sich die Farbe der LS-Lösung von rosafarben (kalt) zu gelb (heiß).
- Diejenigen Proben, die während der Lyse nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt worden sind, tragen möglicherweise ein biologisches Risiko und sollten NICHT in das 3M Molekulare Detektion – Gerät eingesetzt werden.
10. Nehmen Sie den unbedeckten Lysegefäßträger aus dem Heizblockeinsatz. Lassen Sie ihn im 3M Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz zwischen 5 und 10 Minuten abkühlen. Der 3M Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz wird bei Raumtemperatur ohne den Molekulare Detektion – Kühlblockträger verwendet und sollte direkt auf die Laborbank gesetzt werden. Wenn die Lyselösung abgekühlt ist, ist sie wieder rosafarben.
 11. Nehmen Sie den Lysegefäßträger aus dem 3M Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz.

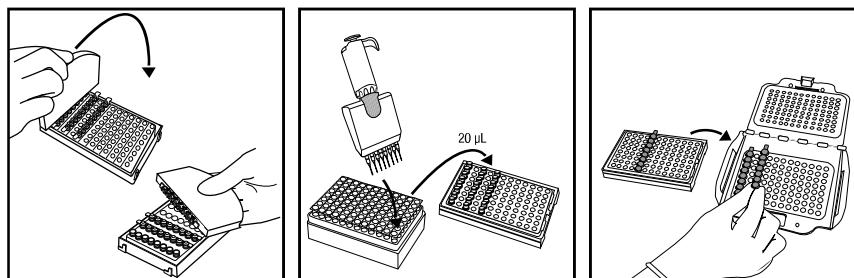


AMPLIFIKATION

1. Für jede Probe und die Negative Kontrolle ist jeweils ein Reagenzgefäß erforderlich.
 - 1.1 Die Reagenzgefäßstreifen können auf die gewünschte Anzahl an Gefäßen zurechtgeschnitten werden. Bestimmen Sie die Anzahl der erforderlichen Reagenzgefäße oder 8-Gefäßstreifen.
 - 1.2 Setzen Sie die Reagenzgefäße in einen leeren Gefäßträger.
 - 1.3 Vermeiden Sie es, die Reagenzkügelchen im unteren Teil der Gefäße aufzurühren.
2. Wählen Sie 1 Reagenzienkontrollgefäß (RC) und stellen Sie es in den Gefäßträger.
3. Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, entkappen Sie jeweils nur einen Reagenzgefäßstreifen und verwenden Sie bei jeder Übertragung eine neue Pipette.
4. Übertragen Sie das Lysat wie unten beschrieben auf die Reagenzgefäße und das RC-Gefäß:

Geben Sie **zunächst** jedes Probenlysats in ein separates Reagenzgefäß und anschließend die NC. Hydrieren Sie **zuletzt** das RC-Gefäß.

5. Entkappen Sie nacheinander die Reagenzgefäßstreifen mit dem 3M™ Molekulare Detektion – Cap/Decap-Werkzeug – Reagenz. Entsorgen Sie die Kappen.
 - 5.1 Übertragen Sie 20 µl des Probenlysats im LS-Gefäß in ein entsprechendes Reagenzgefäß. Halten Sie das Gefäß dabei in einem schrägen Winkel, um die Kügelchen nicht aufzurühren. Mischen Sie den Gefäßinhalt dann, indem Sie ihn 5 Mal auf- und abpipettieren.
 - 5.2 Wiederholen Sie Schritt 5.1, bis Sie jedes einzelne Probenlysats einem entsprechenden Reagenzgefäß im Streifen hinzugefügt haben.
 - 5.3 Verschließen Sie die Reagenzgefäße mit der mitgelieferten zusätzlichen Kappe und üben Sie mit der abgerundeten Seite des 3M 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 den Schritt 5.1 bei allen zu prüfenden Proben.
 - 5.5 Sobald Sie alle Probenlysate übertragen haben, wiederholen Sie Schritt 4.1, um 20 µl des NC-Lysats in ein Reagenzgefäß zu übertragen.
 - 5.6 Geben Sie **20 µl des NC-Lysats in ein RC-Gefäß**. Halten Sie das Gefäß dabei in einem schrägen Winkel, um die Kügelchen nicht aufzurühren. Mischen Sie den Gefäßinhalt dann, indem Sie ihn 5 Mal auf- und abpipettieren.
6. Beladen Sie eine saubere und sterilisierte 3M Molekulare Detektion – Beladehilfe mit den mit Kappen verschlossenen Gefäßen. Schließen und verriegeln Sie die Klappe der 3M Molekulare Detektion – Beladehilfe.



7. Überprüfen und bestätigen Sie die Konfiguration des Testdurchlaufs in der 3M Molekulare Detektion – Software.



8. Klicken Sie auf die Schaltfläche „Start“ in der Software und wählen Sie anschließend das zu verwendende Gerät. Die Klappe des gewählten Geräts öffnet sich automatisch.
9. Setzen Sie die 3M Molekulare Detektion – Beladehilfe in das 3M Molekulare Detektion – Gerät und schließen Sie die Klappe, um mit dem Test zu beginnen. Die Ergebnisse sind innerhalb von 75 Minuten verfügbar, obgleich positive Ergebnisse möglicherweise schneller erfasst werden.
10. Nehmen Sie nach Abschluss des Tests die 3M Molekulare Detektion – Beladehilfe aus dem 3M 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 vermeiden, öffnen Sie niemals Reagenzgefäße, die amplifizierte DNS enthalten. Hierzu gehören auch die Reagenzkontroll-, die Reagenz- und die Matrixkontrollgefäße. 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 Nukleinsäuren amplifikation entstehende Lichtleistungskurve 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 besonderen Kurvenparametern bestimmt. Die mutmaßlich positiven Ergebnisse werden in Echtzeit erstellt, während negative und zu überprüfende Ergebnisse erst nach Abschluss des Testdurchlaufs dargestellt werden.

Vermutlich positive Ergebnisse sollten anhand der Standardarbeitsanweisungen (SOP) des Labors oder durch Befolgen der geeigneten Referenzbestätigungsmethode^(1, 2, 3), beginnend mit der Überführung aus der Erstanreicherungs- in die Zweitanreicherungsbouillon (falls zutreffend), gefolgt von anschließendem Ausplattieren und Bestätigung von Isolatn mittels geeigneter biochemischer und serologischer Methoden, bestätigt werden.

HINWEIS: Selbst ein negatives Ergebnis führt nicht zu einem Ergebnis von Null, da das System und die Amplifikationsreagenzien des 3M Molekulare Detektion 2 – *Listeria monocytogenes* Nachweises über einen „Hintergrund“ verfügen, der in relativem Verhältnis zur Lichteinheit (RLE) steht.

Falls es in seltenen Fällen zu einer ungewöhnlichen Lichtleistung kommt, wird diese vom Algorithmus als „Zu überprüfen“ gekennzeichnet. 3M empfiehlt, den Nachweis der so gekennzeichneten Proben zu wiederholen. Falls das Ergebnis weiterhin als „Zu überprüfen“ gekennzeichnet wird, bestätigen Sie das Ergebnis anhand Ihres bevorzugten Testverfahrens oder gemäß den jeweils geltenden Richtlinien.

Sollten Sie Fragen zu bestimmten Anwendungen oder Verfahren haben, besuchen Sie unsere Website unter www.3M.com/foodsafety oder wenden sich an den lokalen 3M Verkaufsvertreter oder Händler.

LITERATURNACHWEISE:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

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

1. Um ein wärmebehandeltes Lysat zu lagern, setzen Sie eine saubere Kappe auf das Lysegefäß (siehe „Lyse“, 4.5)
2. Lagern Sie es bis zu 72 Stunden bei 4 bis 8 °C.
3. Bereiten Sie eine gelagerte Probe zur Amplifikation vor, indem Sie die 2–3 Mal umdrehen.
4. Entkappen Sie die Gefäße.
5. Setzen Sie die gemischten Lysatgefäße in den 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz und erwärmen Sie sie 5 ± 1 Minuten lang bei 100 ± 1 °C.
6. Nehmen Sie den unbedeckten Lysegefäßträger aus dem Heizblockeinsatz. Lassen Sie ihn im 3M Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz zwischen 5 und 10 Minuten abkühlen.
7. Setzen Sie das Protokoll beim oben beschriebenen Abschnitt „Amplifikation“ fort.



ERLÄUTERUNG DER SYMBOLE AUF DEN PRODUKTETIKETTEN



Vorsicht oder Warnung; siehe Produktanweisungen.



Beachten Sie die Gebrauchsanweisung.



Die mit einem Rahmen versehenen Buchstaben „Lot“ stehen für die Chargennummer.



Neben der Sanduhr sind Monat und Jahr angegeben, die das Verfalldatum anzeigen.



Lagertemperaturbereich.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Istruzioni sul prodotto

**Analisi molecolare di seconda generazione
per il rilevamento di *Listeria monocytogenes*****MDA2LM096****DESCRIZIONE DEL PRODOTTO E USO PREVISTO**

L'analisi molecolare 3M™ di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* è utilizzata con il Sistema per l'analisi molecolare 3M™ per il rilevamento rapido e specifico della *Listeria* in campioni ambientali e di cibo arricchiti.

Le Analisi molecolari 3M per il rilevamento utilizzano l'amplificazione isoterma mediata da loop per amplificare rapidamente le sequenze di acidi nucleici a elevata specificità e sensibilità, combinata alla bioluminescenza per rilevare l'amplificazione. I presunti risultati positivi sono riportati in tempo reale, mentre quelli negativi si visualizzano al completamento dell'analisi. I presunti risultati positivi vanno confermati utilizzando il proprio metodo preferito o come specificato dalle normative locali^(1, 2, 3).

L'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* è concepita per essere utilizzata in un ambiente di laboratorio da professionisti formati in tecniche di laboratorio. 3M non ha documentato l'utilizzo del presente prodotto in settori diversi da quello alimentare e delle bevande. Ad esempio, 3M non ha documentato il presente prodotto per il test su campioni d'acqua, di tipo farmaceutico, cosmetico, clinico o veterinario. L'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* non è stata valutata con tutti i protocolli di test o tutti i ceppi di batteri possibili.

Come tutti i metodi di test, i risultati possono essere influenzati dalla sorgente del terreno di arricchimento. 3M ha valutato l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* con il Brodo Demi Fraser contenente citrato ferrico di ammonio. Di seguito è indicata una formulazione tipica di questo terreno di coltura.

Formula tipica del brodo di base Demi-Fraser (g/l)

Cloruro di sodio	20 g
Fosfato di sodio, bibasico, anidro*	9,6 g
Estratto di carne	5,0 g
Terreno di coltura pancreatico della caseina	5,0 g
Terreno di coltura peptidico di tessuto animale	5,0 g
Estratto di lievito	5,0 g
Cloruro di litio	3,0 g
Potassio fosfato, monobasico	1,35 g
Esculina	1,0 g
Acriflavina HCl	0,0125 g
Acido nalidixico	0,01 g
* Sostituto: Fosfato di sodio, bibasico, disidratato	12,0 g

Supplemento per brodo Fraser

(ingredienti per fiala da 10 ml. Una fiala viene aggiunta a un litro di mezzo basale).

Citrato ferrico di ammonio 0,5 g/10 ml

pH finale 7,2 ± 0,2 a 25 °C

Lo Strumento per l'analisi molecolare 3M™ è destinato all'uso con campioni che sono stati sottoposti a trattamento termico durante la fase di lisi dell'analisi, atto ad annientare gli organismi presenti nel campione. I campioni non correttamente trattati termicamente durante la fase di lisi dell'analisi possono essere considerati un potenziale rischio biologico e NON dovranno essere inseriti nello Strumento per l'analisi molecolare 3M.

La Sicurezza alimentare 3M è certificata ISO (International Organization for Standardization) 9001 per la progettazione e la produzione.

Il kit di prova per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* contiene 96 test descritti nella Tabella 1.

Tabella 1. Componenti del kit

Componente	Identificazione	Quantità	Contenuti	Commenti
Tubi di Soluzione lisi (LS)	Soluzione rosa in tubi trasparenti	96 (12 strisce da 8 tubi)	580 µl di LS per tubo	In rastrelliera e pronti all'uso
Tubi di reagente <i>Listeria monocytogenes</i>	Tubi gialli	96 (12 strisce da 8 tubi)	Miscela di rilevamento e amplificazione specifica liofilizzata	Pronti all'uso
Tappi supplementari	Tappi gialli	96 (12 strisce da 8 tappi)		Pronti all'uso
Controllo reagente (RC)	Tubi trasparenti con apertura a scatto	16 (2 strisce da 8 tubi singoli)	Miscela di rilevamento e amplificazione DNA di controllo liofilizzato	Pronti all'uso
Guida rapida		1		

Il Controllo negativo, non fornito con il kit, è un mezzo di arricchimento sterile, ad es. un brodo Demi-Fraser. Non utilizzare l'acqua come Controllo negativo.

SICUREZZA

L'utente è tenuto a leggere, capire e seguire tutte le informazioni per la sicurezza contenute nelle istruzioni per il Sistema per l'analisi molecolare 3M e l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes*. Conservare queste istruzioni sulla sicurezza per poterle consultare in futuro.

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

⚠ **ATTENZIONE:** indica una situazione pericolosa che, se non evitata, potrebbe causare danni materiali e/o lesioni di natura lieve o moderata.

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

⚠ AVVERTENZA

Non utilizzare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* nella diagnosi di condizioni patologiche in esseri umani o animali.

In caso di esposizione, il metodo dell'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* potrebbe generare *Listeria monocytogenes* a livelli sufficienti a causare parti di feti morti e decessi nelle donne in gravidanza e nei soggetti immunocompromessi.

L'utente è tenuto ad addestrare il proprio personale nelle attuali tecniche di analisi appropriate: ad esempio, le buone prassi di laboratorio ISO 17025⁽⁴⁾ o ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Attenersi al protocollo ed eseguire i test esattamente come descritto nelle istruzioni del prodotto.
- Conservare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* come indicato sulla confezione e nelle istruzioni sul prodotto.
- Utilizzare sempre l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* entro la data di scadenza.
- Utilizzare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* su campioni ambientali e alimentari che sono stati validati internamente o da terzi.
- Utilizzare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* esclusivamente per superfici, disinfettanti, protocolli e ceppi batterici valutati internamente o da terzi.
- Per un campione ambientale contenente tampone neutralizzante con composto aril-solfonato, eseguire una diluizione 1:2 prima della prova (1 parte di campione in 1 parte di brodo di arricchimento sterile). Prodotti di manipolazione dei campioni 3M™ contenenti tampone neutralizzante: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XLSL10NB, HS10NB e HS119510NB.

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

- Si consiglia vivamente di informare il personale femminile del laboratorio del rischio per lo sviluppo del feto, in caso di infezione contratta dalla madre per esposizione a *Listeria monocytogenes*.
- Eseguire un test per patogeni in un laboratorio adeguatamente equipaggiato, sotto la supervisione di personale esperto.
- Durante la manipolazione dei reagenti e dei campioni contaminati, seguire sempre le pratiche standard di sicurezza di laboratorio, compreso l'utilizzo di abbigliamento protettivo e protezioni appropriate per gli occhi.
- Evitare il contatto con il contenuto dei tubi di reagente e del terreno di arricchimento dopo l'amplificazione.
- Smaltire i campioni arricchiti conformemente agli standard di settore vigenti.

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

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

Per ridurre i rischi associati alla contaminazione ambientale:

- Attenersi agli standard di settore vigenti in materia di smaltimento di rifiuti contaminati.

⚠ ATTENZIONE

- Non superare l'impostazione di temperatura consigliata sul riscaldatore.
- Non superare il tempo di riscaldamento raccomandato.
- Utilizzare un termometro calibrato e appropriato per verificare la temperatura dell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M™ (ad es., un termometro a immersione parziale o con termocoppia digitale, non un termometro a immersione totale). Il termometro deve essere collocato nella posizione indicata nell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M.

AVVISO

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

- Si consiglia di utilizzare punte di pipetta di grado biologico molecolare sterili con barriera di aerosol (filtrate).
- Utilizzare una nuova punta di pipetta per ciascun trasferimento di campione.
- Adottare buone prassi di laboratorio per trasferire il campione dall'arricchimento al tubo di lisi. Per evitare la contaminazione della pipettatrice, l'utente può scegliere di aggiungere una fase di trasferimento intermedia. Ad esempio, l'utente può trasferire ciascun campione arricchito in un tubo sterile.
- Utilizzare una stazione di lavoro di biologia molecolare contenente una lampada germicida, laddove disponibile.

Per ridurre i rischi associati ad un risultato falso positivo:

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

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

Per qualsiasi domanda su applicazioni o procedure specifiche, visitare il sito Web all'indirizzo www.3M.com/foodsafety o contattare il distributore o il rappresentante 3M di zona.

LIMITAZIONE DI GARANZIA/RIMEDIO LIMITATO

SALVO NEI CASI ESPRESSAMENTE INDICATI IN UNA SEZIONE DI GARANZIA LIMITATA DELLA SINGOLA CONFEZIONE DEL PRODOTTO, 3M NON RICONOSCE ALCUNA GARANZIA ESPLICITA O IMPLICITA, INCLUSE, MA NON A ESSE LIMITATE, LE EVENTUALI GARANZIE DI COMMERCIALITÀ O DI IDONEITÀ A UNO SCOPO PARTICOLARE. Qualora un prodotto 3M Sicurezza alimentare sia difettoso, 3M o il suo distributore autorizzato provvederanno, a loro discrezione, alla sostituzione o al rimborso del prezzo d'acquisto del prodotto. Questi sono gli unici rimedi a disposizione del cliente. Si dovrà avvisare immediatamente 3M entro sessanta giorni dal riscontro di eventuali difetti sospetti nel prodotto, provvedendo a rispedirlo a 3M. Chiamare il servizio clienti (negli USA: 1-800-328-1671) o rivolgersi al rappresentante autorizzato dei prodotti Sicurezza alimentare 3M per ottenere l'autorizzazione alla restituzione del prodotto.

LIMITAZIONE DI RESPONSABILITÀ DA PARTE DI 3M

3M NON SARÀ RESPONSABILE DI PERDITE O DANNI, DIRETTI, INDIRETTI, SPECIALI, INCIDENTALI O CONSEGUENTI, INCLUSA, MA NON IN VIA LIMITATIVA, LA PERDITA DI PROFITTO. In nessun caso la responsabilità legale di 3M andrà oltre il prezzo d'acquisto del prodotto presunto difettoso.

RESPONSABILITÀ DELL'UTENTE

Gli utenti sono tenuti a leggere e apprendere le istruzioni e le informazioni relative al prodotto. Visitare il nostro sito web all'indirizzo www.3M.com/foodsafety, oppure contattare il distributore locale o rappresentante commerciale 3M per ulteriori informazioni.

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

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

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

Come per qualsiasi metodo di analisi, i risultati ottenuti grazie all'uso di prodotti di 3M Sicurezza alimentare non costituiscono una garanzia della qualità delle matrici o dei processi sottoposti a prova.

Per aiutare i clienti nella valutazione del metodo per le varie matrici alimentari, 3M ha elaborato il kit di Controllo della matrice di rilevamento molecolare 3M™. Ove necessario, utilizzare il Controllo della matrice (MC) per stabilire se la matrice può avere un impatto sui risultati dell'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes*. Durante qualsiasi periodo di valutazione in caso di adozione di un metodo 3M o durante l'esecuzione di test su matrici note o sconosciute o su matrici sottoposte a modifiche di materie prime o di processo, sottoporre a test numerosi campioni rappresentativi della matrice, cioè campioni di diversa origine.

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

CONSERVAZIONE E SMALTIMENTO

Conservare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* a 2-8 °C. Non congelare. Conservare il kit lontano da fonti luminose. Dopo aver aperto il kit, verificare che la busta d'alluminio non risulti danneggiata. Qualora la busta d'alluminio fosse danneggiata, non utilizzare i prodotti contenuti all'interno. Dopo l'apertura, i tubi di reagente inutilizzati dovrebbero essere sempre conservati in una busta richiudibile con essiccante all'interno per mantenere la stabilità dei reagenti liofilizzati. Conservare le buste richiudibili a 2-8 °C per non oltre 60 giorni.

Non utilizzare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* oltre la data di scadenza. La data di scadenza e il numero di lotto sono riportati sull'etichetta esterna della scatola. Dopo l'utilizzo, il terreno di arricchimento e i tubi dell'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* possono potenzialmente contenere materiali patogenetici. Una volta completato il test, attenersi agli standard di settore vigenti in materia di smaltimento di rifiuti contaminati. Per ulteriori informazioni, consultare la Scheda di sicurezza dei materiali e le normative locali per lo smaltimento.

ISTRUZIONI PER L'USO

Seguire attentamente tutte le istruzioni. In caso contrario si possono ottenere risultati non precisi.

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

ARRICCHIMENTO DEL CAMPIONE

In Tabella 2 sono riportate indicazioni sull'arricchimento di campioni alimentari e ambientali. È responsabilità dell'utente convalidare i protocolli di campionamento alternativi o i rapporti di diluizione per assicurare che il presente metodo di prova soddisfi i propri criteri.

Alimenti

1. Lasciare che il mezzo di arricchimento brodo di Demi-Fraser (comprendente il citrato ferrico di ammonio) si equilibri alla temperatura ambiente del laboratorio.
2. Combinare asetticamente il terreno di arricchimento e il campione secondo la Tabella 2. Per tutti i campioni di carne e con elevato numero di particelle, si consiglia l'utilizzo di filtri a sacco
3. Omogeneizzare a fondo con miscelatore, agitatore o miscelazione manuale per $2 \pm 0,2$ minuti. Incubare a 37 ± 1 °C secondo la Tabella 2.
4. Per i prodotti caseari non pastorizzati, trasferire 0,1 ml di arricchimento primario in 10 ml di brodo Fraser. Incubare a 37 ± 1 °C per 20-24 ore.



Campioni ambientali

I dispositivi di raccolta dei campioni possono essere costituiti da una spugna idratata con una soluzione neutralizzante per inibire gli effetti dei disinfettanti. 3M consiglia l'utilizzo di una spugna di cellulosa priva di biocidi. La soluzione neutralizzante può essere un brodo neutralizzante Dey-Engley (D/E) o un brodo Lethen. Si consiglia di disinfettare l'area dopo il campionamento.

AVVERTENZA: in caso di selezione di utilizzo di Tampone neutralizzante (NB) con composto aril-solfonato, come soluzione idratante per la spugna, è necessario eseguire una diluizione 1:2 (1 parte di campione in 1 parte di brodo di arricchimento sterile) del campione ambientale arricchito prima del test per ridurre i rischi associati al risultato falso negativo che porta al rilascio di prodotto contaminato.

La dimensione consigliata dell'area di campionamento per verificare la presenza o assenza di patogeni sulla superficie è di almeno 100 cm² (10 cm x 10 cm o 4"x4"). In caso di campionamento con una spugna, coprire l'intera area procedendo in due direzioni (da sinistra a destra e dall'alto in basso) o raccogliere i campioni ambientali seguendo il proprio protocollo di campionamento attuale o le linee guida FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ o ISO 18593⁽⁶⁾.

1. Lasciare che il mezzo di arricchimento brodo di Demi-Fraser (comprendente il citrato ferrico di ammonio) si equilibri alla temperatura ambiente del laboratorio.
2. Combinare asetticamente il terreno di arricchimento e il campione, secondo la Tabella 2.
3. Omogeneizzare a fondo con miscelatore, agitatore o miscelazione manuale per $2 \pm 0,2$ minuti. Incubare a 37 ± 1 °C per 24-30 ore.

Tabella 2: Protocolli di arricchimento che utilizzano l'arricchimento per brodo Demi-Fraser

Matrice campione	Dimensione campione	Volume del brodo di arricchimento (ml)	Temperatura di arricchimento (°C)	Tempo di arricchimento (h)				
Carni, pollame, frutti di mare e pesce trattati con calore, cotti o stagionati. Prodotti caseari trattati con calore/ pastorizzati Prodotti agricoli e verdure Alimenti multicomponenti	25 g	225	37	24-30				
Campioni ambientali	1 spugna	100 o 225	37	24-30				
	1 tampone	10	37	24-30				
Carne cruda, pollame, frutti di mare, pesce	25 g	475	37	28-32				
Matrice campione	Arricchimento principale (brodo Demi-Fraser)				Arricchimento secondario (brodo Fraser)			Volume dell'analisi del campione ^(a)
	Dimensione campione	Volume del brodo di arricchimento (ml)	Temperatura di arricchimento (°C)	Tempo di arricchimento (h)	Dimensione campione	Temperatura di arricchimento (°C)	Tempo di arricchimento (h)	
Prodotti caseari crudi	25 g	225	37	20-24	Trasferire 0,1 ml nei 10 ml di brodo Fraser	37	20-24	10 µl

(a) Volume del campione trasferito nei tubi della soluzione di lisi. Fare riferimento alla fase 4.6 della sezione Lisi.

PREPARAZIONE DEL VASSOIO PER CARICAMENTO RAPIDO PER IL SISTEMA DI RILEVAMENTO MOLECOLARE 3M™

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

PREPARAZIONE DEL BLOCCO DI RAFFREDDAMENTO ESTRAIBILE PER IL SISTEMA DI RILEVAMENTO MOLECOLARE 3M™

Posizionare il blocco di raffreddamento per il sistema di rilevamento molecolare 3M™ sul banco di laboratorio (il vassoio per blocco di raffreddamento estraibile per il sistema rilevamento molecolare 3M™ non viene utilizzato). Utilizzare il blocco di raffreddamento alla temperatura ambiente del laboratorio (20-25 °C).

PREPARAZIONE DELL'INSERTO DEL BLOCCO DI CALORE PER IL SISTEMA DI RILEVAMENTO MOLECOLARE 3M™

Posizionare l'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M™ in un'unità riscaldante a secco con blocco. Accendere l'unità riscaldante a secco con blocco e impostare la temperatura per consentire all'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M di raggiungere e mantenere una temperatura di 100 ± 1 °C.

NOTA: a seconda dell'unità riscaldante, attendere circa 30 minuti affinché l'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M raggiunga la temperatura. Utilizzando un termometro adeguatamente calibrato (ad es., un termometro a immersione parziale o uno digitale a termocoppia, non un termometro a immersione totale) inserito nella posizione designata, verificare che l'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M sia a 100 ± 1 °C.

PREPARAZIONE DELLO STRUMENTO PER L'ANALISI MOLECOLARE 3M™

1. Avviare il Software per l'analisi molecolare 3M™ ed effettuare l'accesso.
2. Accendere lo Strumento per l'analisi molecolare 3M.
3. Creare o modificare un'esecuzione con i dati per ciascun campione. Fare riferimento al Manuale per l'utente del Sistema per l'analisi molecolare 3M per i dettagli.

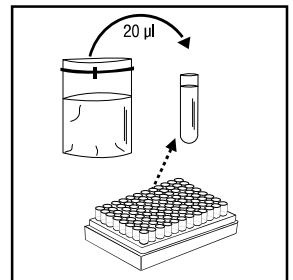
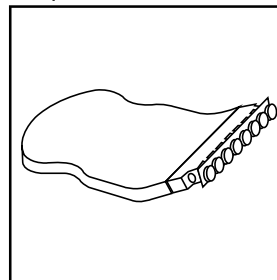
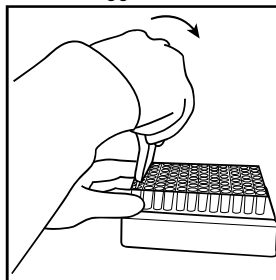
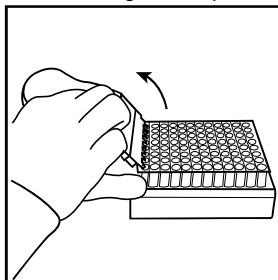
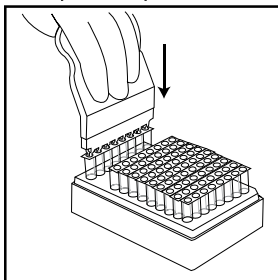
NOTA: lo Strumento per l'analisi molecolare 3M deve raggiungere e mantenere una temperatura di 60 °C prima di inserire il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare 3M con tubi di reazione. Tale fase di riscaldamento dura 20 minuti circa ed è indicata da una spia ARANCIONE sulla barra di stato dello strumento. Quando lo strumento è pronto per avviare l'analisi, la barra di stato diventa VERDE.

LISI

1. Far riscaldare i tubi di soluzione di lisi (LS) lasciando la rastrelliera a temperatura ambiente (20-25 °C) per una notte (16-18 ore). Le alternative per equilibrare i tubi LS a temperatura ambiente sono: posizionare i tubi LS sul banco di laboratorio per almeno 2 ore; incubarli in un incubatore a 37 ± 1 °C per 1 ora; oppure posizionarli in un'unità riscaldante a secco con doppio blocco per 30 secondi a 100 °C.
2. Capovolgere i tubi provvisti di tappo per miscelare, fino a 4 ore prima dell'uso.
3. Rimuovere il brodo di arricchimento dall'incubatore.
4. È necessario un tubo LS per ciascun campione e il Controllo negativo (NC) (mezzo di arricchimento sterile).
 - 4.1 Le strisce di tubi LS possono essere tagliate per ottenere il numero di tubi LS necessario. Selezionare il numero necessario di strisce di tubi LS singole o da 8 tubi. Posizionare i tubi LS in una rastrelliera vuota.
 - 4.2 Al fine di evitare la contaminazione crociata, stappare una striscia di tubi LS alla volta e utilizzare una nuova punta di pipetta per ciascuna fase di trasferimento.
 - 4.3 Trasferire il campione arricchito nei tubi LS come descritto di seguito:

Trasferire **innanzitutto** ciascun campione arricchito in un tubo LS singolo. Trasferire il NC per **ultimo**.

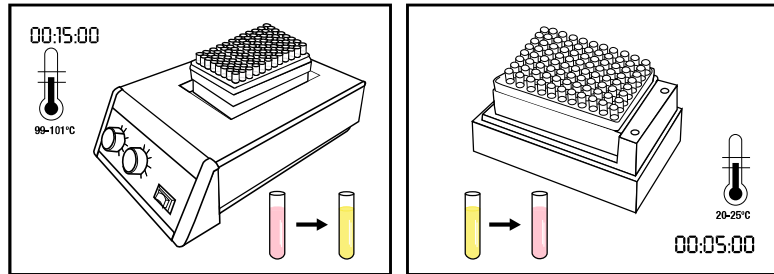
- 4.4 Utilizzare lo Strumento di inserimento/rimozione del tappo per il rilevamento molecolare 3M™ - Lisi per rimuovere il tappo da una striscia di tubi LS, una striscia alla volta.
- 4.5 Gettare via il tappo del tubo LS; se il lisato viene conservato per effettuare nuovamente il test, posizionare i tappi in un contenitore pulito per consentirne nuovamente l'applicazione dopo la lisi. Per l'elaborazione del lisato conservato, consultare l'Appendice A.
- 4.6 Trasferire 20 µl di campione in un tubo LS, a meno che non venga indicato altrimenti nella tabella del protocollo.
5. Ripetere il punto 4.2 finché ciascun singolo campione non è stato aggiunto al tubo LS corrispondente nella striscia.



6. Ripetere i punti da 4.1 a 4.6 fin quando è necessario, per il numero di campioni da testare.
7. Quando sono stati trasferiti tutti i campioni, trasferire 20 µl di NC (terreno di arricchimento sterile, per es.: Brodo Demi Fraser) in un tubo LS. Non utilizzare l'acqua come NC (Controllo negativo).
8. Verificare che la temperatura dell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M sia 100 ± 1 °C.
9. Posizionare la rastrelliera per tubi LS, scoperta, nell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M e riscaldare per 15 ± 1 minuti. Durante il riscaldamento, la soluzione LS passerà dall'essere di colore rosa (freddo) a giallo (caldo).

I campioni non correttamente trattati termicamente durante la fase di lisi dell'analisi possono essere considerati un potenziale rischio biologico e NON dovranno essere inseriti nello Strumento per l'analisi molecolare 3M.

10. Rimuovere la rastrelliera dei tubi LS scoperta dal blocco di calore e consentire il raffreddamento nel blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare 3M per almeno 5 minuti e per un massimo di 10 minuti. Il supporto per il pozzetto di raffreddamento molecolare 3M, utilizzato a temperatura ambiente senza il vassoio per blocco di raffreddamento estraibile per il sistema rilevamento molecolare, deve essere posto direttamente sul banco del laboratorio. Quando è fredda, la soluzione lisi torna a essere di colore rosa.
11. Rimuovere la rastrelliera dei tubi LS dal blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare 3M.

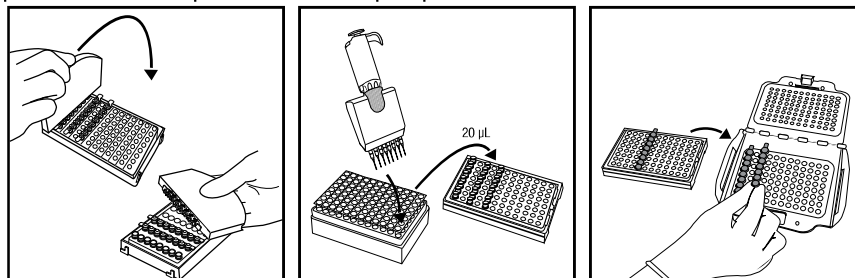


AMPLIFICAZIONE

1. È necessario un tubo di reagente per ciascun campione e NC.
 - 1.1 Le strisce di tubi possono essere tagliate al numero di tubi desiderato. Selezionare il numero necessario di singoli tubi di reagente o di strisce da 8 tubi.
 - 1.2 Posizionare i tubi di reagente in una rastrelliera vuota.
 - 1.3 Evitare di spostare le pastiglie di reagente poste sul fondo dei tubi.
2. Selezionare 1 tubo di Controllo reagente (RC) e posizionarlo nella rastrelliera.
3. Al fine di evitare la contaminazione crociata, rimuovere i tappi da una striscia di tubi di reagente alla volta e utilizzare una nuova punta di pipetta per ciascuna fase di trasferimento.
4. Trasferire il lisato nei tubi di reagente e nel tubo RC come descritto di seguito:

Trasferire **prima** ciascun lisato campione nei tubi di reagente singoli, quindi trasferire il NC. Idratare il tubo RC per **ultimo**.

5. Utilizzare lo Strumento di inserimento/rimozione del tappo per il rilevamento molecolare 3M™ - Reagente per rimuovere il tappo dai tubi di reagente, una striscia di tubi di reagente alla volta. Gettare il tappo.
 - 5.1 Trasferire 20 µl di lisato campione contenuto nel tubo LS nel tubo di reagente corrispondente. Erogare con un'inclinazione per evitare il movimento delle pastiglie. Miscelare pipettando delicatamente su e giù per 5 volte.
 - 5.2 Ripetere il punto 5.1 finché ciascun lisato campione singolo non è stato aggiunto a un tubo di reagente corrispondente nella striscia.
 - 5.3 Coprire i tubi di reagente con i tappi supplementari forniti e utilizzare il lato arrotondato dello Strumento di inserimento/rimozione del tappo per il rilevamento molecolare 3M – Reagente per applicare pressione con un movimento in avanti e all'indietro assicurandosi di stringere bene il tappo.
 - 5.4 Ripetere il punto 5.1, se necessario, per il numero di campioni da testare.
 - 5.5 Una volta trasferiti tutti i lisati campione, ripetere il punto 4.1 per trasferire 20 µl di lisato NC in un tubo reagente.
 - 5.6 Trasferire **20 µl di lisato NC in un tubo RC**. Erogare con un'inclinazione per evitare il movimento delle pastiglie. Miscelare pipettando delicatamente su e giù per 5 volte.
6. Caricare i tubi provvisti di tappo su un Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare 3M pulito e decontaminato. Chiudere saldamente il coperchio del Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare 3M.



7. Controllare e confermare l'esecuzione configurata sul Software per l'analisi molecolare 3M.
8. Fare clic sul pulsante Start nel software e selezionare lo strumento da utilizzare. Il coperchio dello strumento selezionato si apre automaticamente.
9. Posizionare il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare 3M nello Strumento per l'analisi molecolare 3M e chiudere il coperchio per avviare l'analisi. I risultati sono forniti entro 75 minuti, sebbene quelli positivi possano essere rilevati prima.
10. Una volta completata l'analisi, rimuovere il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare 3M dallo Strumento per l'analisi molecolare 3M e smaltire i tubi immergendoli in una soluzione di candeggina per uso domestico 1-5% (diluita con acqua v:v) per 1 ora e lontano dall'area di preparazione dell'analisi.

AVVISO: per ridurre il rischio di falsi positivi dovuti alla contaminazione crociata, non aprire mai i tubi di reagente contenenti DNA amplificato. Ciò include tubi di Controllo reagente, Reagente e Controllo matrice. Smaltire sempre i tubi di reagente sigillati immergendoli in una soluzione di candeggina per uso domestico 1-5% (diluita con acqua v:v) per 1 ora e lontano dall'area di preparazione dell'analisi.

RISULTATI E INTERPRETAZIONE

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

I presunti risultati positivi vanno confermati in base alle procedure operative standard del laboratorio o seguendo un adeguato metodo di riferimento per la conferma^(1,2,3), iniziando dal trasferimento dall'arricchimento primario al brodo di arricchimento secondario (se pertinente), seguito dall'applicazione di un disco e dalla conferma degli isolati utilizzando metodi biochimici e sierologici adeguati.

NOTA: anche un campione negativo non fornirà una lettura zero poiché il sistema e i reagenti di amplificazione dell'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *Listeria monocytogenes* hanno un'unità di luce relativa di "background" (RLU).

Nel raro caso di emissione luminosa inusuale, l'algoritmo la classifica come "Da esaminare". 3M consiglia all'utente di ripetere l'analisi per qualsiasi campione Da esaminare. Se il risultato continua ad essere Da esaminare, procedere con il test di conferma utilizzando il metodo desiderato o seguendo le specifiche delle normative locali

Per qualsiasi domanda su applicazioni o procedure specifiche, visitare il sito Web all'indirizzo www.3M.com/foodsafety o contattare il distributore o il rappresentante 3M di zona.

BIBLIOGRAFIA:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

Appendice A. Interruzione di protocollo: Conservazione e nuovo test dei lisati trattati con calore

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

SPIEGAZIONE DEI CAMPIONI DI ETICHETTA DEL PRODOTTO



Attenzione o Avvertenza, consultare le istruzioni relative al prodotto.



Consultare le istruzioni relative al prodotto.



Il lotto racchiuso in un rettangolo rappresenta il numero di lotto.



La clessidra è seguita da mese e anno che rappresentano la data di scadenza.



Limitazioni della temperatura di conservazione.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Instrucciones del producto

Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* MDA2LM096

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO Y USO PREVISTO

El Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M™ se usa junto con el Sistema de Detección Molecular 3M™ para la detección rápida y específica de especies de *Listeria* en muestras enriquecidas ambientales y de alimentos.

Los Ensayos de Detección Molecular 3M usan una amplificación isotérmica mediada por asas para amplificar rápidamente secuencias de ácidos nucleicos con alta especificidad y sensibilidad, combinada con bioluminiscencia para detectar la amplificación. Los resultados presuntivos positivos se reportan en tiempo real, mientras que los resultados negativos se revelan una vez terminado el ensayo. Los resultados presuntivos positivos se deben confirmar utilizando el método que usted prefiera o según lo especifiquen las regulaciones locales^(1,2,3).

El Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M está previsto para su uso en laboratorios por parte de profesionales capacitados en el empleo de técnicas de laboratorio. 3M no documentó el uso de este producto en otras industrias que no sean la alimentaria o la de bebidas. Por ejemplo, 3M no documentó este producto para el análisis de muestras clínicas, veterinarias, cosméticas, farmacéuticas ni de agua. El Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M no ha sido evaluado con todos los protocolos de pruebas ni con todas las cepas de bacterias posibles.

Como sucede con todos los métodos de prueba, el tipo de medio de enriquecimiento puede afectar los resultados. 3M ha evaluado el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M con Caldo Demi-Fraser que contiene citrato de amonio férrico. A continuación se presenta una fórmula típica de este medio.

Fórmula típica de la Base de Caldo Demi-Fraser (g/l)

Cloruro de sodio	20 g
Fosfato de sodio, dibásico, anhidro*	9,6 g
Extracto de carne	5 g
Digerido pancreático de caseína	5 g
Digerido péptico de tejido animal	5 g
Extracto de levaduras	5 g
Cloruro de litio	3 g
Fosfato de potasio, monobásico	1,35 g
Esculina	1 g
Clorhidrato de acriflavina	0,0125 g
Ácido nalidíxico	0,01 g
* Sustituto: Fosfato de sodio, dibásico, deshidratado	12 g

Suplemento para Caldo Fraser

(Ingredientes por 10 ml de vial. Se agrega un vial a un litro de medio basal.)

Citrato de amonio férrico	0,5 g/10 ml
---------------------------	-------------

pH final 7,2 ± 0,2 a 25 °C.

El Equipo de Detección Molecular 3M™ está previsto para ser utilizado con muestras que hayan sido tratadas con calor durante el paso de lisis del ensayo, que se diseñó para destruir los organismos presentes en la muestra. Las muestras que no se hayan tratado debidamente con calor durante el paso de lisis del ensayo pueden considerarse un posible riesgo biológico y NO deben introducirse en el Equipo de Detección Molecular 3M.

3M Food Safety cuenta con certificación de la Organización internacional para la estandarización (ISO) 9001 de diseño y fabricación.

El kit de pruebas del Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M contiene 96 pruebas, que se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Componentes del kit

Artículo	Identificación	Cantidad	Contenido	Comentarios
Tubos de Solución para la Lisis (LS)	Solución rosada en tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µl de LS por tubo	En gradillas y listos para usar
Tubos de reactivo para <i>Listeria monocytogenes</i>	Tubos amarillos	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mezcla de detección y amplificación específica liofilizada	Listo para usar
Tapas adicionales	Tapas amarillas	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listo para usar
Control de Reactivos (RC)	Tubos transparentes con tapa de bisagra	16 (2 bolsas de 8 tubos individuales)	Mezcla de detección y amplificación de control liofilizado de ADN	Listo para usar
Guía de Inicio Rápido		1		

El Control negativo, no provisto en el kit, es el medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, el Caldo Demi-Fraser. No use agua como un Control negativo.



SEGURIDAD

El usuario debe leer, comprender y proceder de acuerdo con toda la información sobre seguridad incluida en las instrucciones para el Sistema de Detección Molecular 3M y el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M. Guarde las instrucciones de seguridad para referencia futura.

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

⚠ PRECAUCIÓN: Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar lesiones moderadas o menores, y/o daños a la propiedad.

AVISO: Indica una situación potencialmente peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar daños a la propiedad.

⚠ ADVERTENCIA

No use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M para el diagnóstico de afecciones en seres humanos ni animales.

El método de Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M puede generar niveles de *Listeria monocytogenes* suficientemente elevados como para provocar, en caso de exposición, nacimientos de niños muertos y muertes en mujeres embarazadas y en las personas inmunocomprometidas.

El usuario debe capacitar a su personal en lo que respecta a las técnicas de prueba adecuadas actuales: por ejemplo, Buenas Prácticas de Laboratorio, la norma ISO 17025⁽⁴⁾ o la norma ISO 7218⁽⁵⁾.

Para reducir los riesgos asociados con un resultado falso negativo que provoque la diseminación 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 *Listeria monocytogenes* 3M como se indica en el embalaje y en las instrucciones del producto.
- Siempre use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M antes de su fecha de vencimiento.
- Use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M con muestras ambientales y de alimentos que hayan sido validadas internamente o por un tercero.
- Use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M solo con superficies, desinfectantes, protocolos y cepas bacterianas que hayan sido validados internamente o por un tercero.
- En el caso de muestras ambientales que contengan una solución amortiguadora neutralizante con complejo de aril sulfonato, prepare una dilución 1:2 antes de la prueba (1 parte de la muestra en 1 parte de caldo de enriquecimiento estéril). Productos de manejo de muestras de 3M™ que incluyen una solución amortiguadora: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB y HS119510NB.

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

- Es altamente recomendable que el personal femenino de los laboratorios conozca cuál es el riesgo para el feto en desarrollo que representa la infección de la madre resultante de la exposición a *Listeria monocytogenes*.
- Realice las pruebas de patógenos en un laboratorio debidamente equipado, bajo la supervisión de personal capacitado.
- 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 reactivo después de la amplificación.
- Deseche las muestras enriquecidas según los estándares actuales de la industria.

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 asociados con la contaminación ambiental:

- Proceda de acuerdo con los estándares actuales de la industria para el desecho de residuos contaminados.

⚠ PRECAUCIÓN

- No exceda la temperatura recomendada al configurar el calentador.
- No exceda el tiempo de calentamiento recomendado.
- Use un termómetro calibrado adecuado para verificar la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M™ (por ej., un termómetro de inmersión parcial o un termómetro digital termopar, no un termómetro de inmersión total). El termómetro debe colocarse en la ubicación designada en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M.

AVISO

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

- Se recomienda usar puntas de pipetas estériles de calidad de biología molecular con barrera para aerosoles (filtradas).
- Use una punta de pipeta nueva para cada transferencia de muestra.
- Use las Buenas Prácticas de Laboratorio para transferir la muestra del medio de 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.

Para reducir los riesgos relacionados con un resultado falso positivo:

- Nunca abra los tubos después de la amplificación.
- Siempre deseche los tubos contaminados embebiéndolos 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.

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

Si tiene preguntas acerca de los procedimientos o las aplicaciones específicas, visite nuestro sitio web en www.3M.com/foodsafety o comuníquese con su representante o distribuidor local de 3M.

LIMITACIÓN DE GARANTÍAS / RECURSO LIMITADO

LIMITACIÓN DE GARANTÍAS / RECURSO LIMITADO SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA O EN EL EMBALAJE DE UN PRODUCTO ESPECÍFICO, 3M 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 3M Food Safety es defectuoso, 3M 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 3M en un lapso de sesenta días a partir del descubrimiento de cualquier sospecha de defecto en un producto y devolver dicho producto a 3M. Llame a Atención al Cliente (1-800-328-1671 en los EE. UU.) o a su representante oficial de 3M Food Safety para obtener una Autorización de devolución de productos..

LIMITACIÓN DE LA RESPONSABILIDAD DE 3M

3M 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 3M conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

RESPONSABILIDAD DEL USUARIO

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones e información del producto. Visite nuestro sitio web en www.3M.com/foodsafety o póngase en contacto con su representante o distribuidor local de 3M 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 y la técnica de laboratorio pueden afectar los resultados.

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

Además, es responsabilidad del usuario determinar que cualquier método de prueba y sus resultados cumplen con los requisitos de sus clientes y proveedores.

Como sucede con cualquier método de prueba, los resultados obtenidos del uso de cualquier producto de 3M Food Safety no constituyen una garantía de calidad de las matrices ni de los procesos analizados.

Para ayudar a los clientes a evaluar el método para las diferentes matrices de alimentos, 3M desarrolló el kit de Control de Matriz para Detección Molecular 3M™. Cuando sea necesario, utilice el Control de Matriz (MC) para determinar si la matriz tiene la capacidad de impactar en los resultados del Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M. Analice varias muestras representativas de la matriz, es decir, las muestras obtenidas de diferente origen, durante cualquier periodo de validación al adoptar el método de 3M o al analizar matrices nuevas o desconocidas, o matrices que hayan sido sometidas a cambios en el proceso o la materia prima.

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

ALMACENAMIENTO Y DESECHO

Almacene el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M a una temperatura 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 reselladas a una temperatura entre 2 °C y 8 °C durante 60 días como máximo.

No use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M 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 *Listeria monocytogenes* 3M podrían contener materiales patógenos. Una vez terminada la prueba, proceda de acuerdo con los estándares actuales de la industria para el desecho de residuos contaminados. Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información y conocer las regulaciones locales para el desecho de materiales.

INSTRUCCIONES DE USO

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

Descontamine periódicamente las mesas y el equipo de laboratorio (pipetas, herramientas para encapuchado/desencapuchado, 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.

ENRIQUECIMIENTO DE LA MUESTRA

En la Tabla 2, se ofrece una guía para el enriquecimiento de muestras de alimentos y 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 de Caldo Demi-Fraser (que incluyen citrato de amonio férrico) se equilibre a la temperatura ambiente del laboratorio.
2. Combine el medio de enriquecimiento y la muestra de forma aséptica según la Tabla 2. Para todo tipo de carnes y muestras con alto contenido de partículas, se recomienda utilizar bolsas con filtro.
3. Homogenice totalmente mediante mezclado, un homogeneizador peristáltico o a mano durante $2 \pm 0,2$ minutos. Incube a 37 ± 1 °C según la Tabla 2.
4. Para productos lácteos crudos, transfiera 0,1 ml del enriquecimiento primario a 10 ml de Caldo Fraser. Incube a 37 ± 1 °C durante 20 a 24 horas.

Muestras ambientales

Puede usarse como dispositivo para recolección de muestras una esponja hidratada con una solución neutralizante para inactivar los efectos de los desinfectantes. 3M recomienda usar una esponja de celulosa libre de biocida. La solución neutralizante puede ser Caldo Neutralizante Dey-Engley (D/E) o Caldo Letheen. Se recomienda desinfectar el área después del muestreo.

ADVERTENCIA: Si decidiera usar una Solución Amortiguadora Neutralizante (NB) 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 diseminación del producto contaminado.

Se recomienda que el tamaño del área de muestreo para verificar la presencia o ausencia de patógenos en la superficie sea de no menos de 100 cm² (10 cm x 10 cm o 4" x 4"). Al hacer el muestreo con una esponja, cubra toda el área moviéndose en dos direcciones (de izquierda a derecha y luego desde arriba hacia abajo) o recolecte muestras ambientales según su protocolo de muestreo actual o de acuerdo con los lineamientos del Manual de Bacteriología Analítica (BAM) de la FDA⁽¹⁾, de la guía de Laboratorio de Microbiología (MLG) de la agencia de Servicio de Seguridad e Inspección de los Alimentos (FSIS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA)⁽²⁾ o de la norma ISO 18593⁽⁶⁾.

1. Permita que el medio de enriquecimiento de Caldo Demi-Fraser (que incluyen citrato de amonio férrico) se equilibre a la temperatura ambiente del laboratorio.
2. Combine el medio de enriquecimiento y la muestra de forma aséptica según la Tabla 2.
3. Homogenice totalmente mediante mezclado, un homogeneizador peristáltico o a mano durante $2 \pm 0,2$ minutos. Incube a 37 ± 1 °C durante 24 a 30 horas.

Tabla 2: Protocolos de enriquecimiento del Caldo Demi-Fraser

Matriz de la muestra	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (ml)	Temperatura de enriquecimiento (°C)	Tiempo de enriquecimiento (h)				
Carnes, aves, mariscos y pescados procesados con calor, cocidos, curados Productos lácteos procesados con calor/ pasteurizados Productos agrícolas y vegetales Alimentos con múltiples componentes	25 g	225	37	24 a 30				
Muestras ambientales	1 esponja	100 o 225	37	24 a 30				
	1 hisopo	10	37	24 a 30				
Carnes, aves, mariscos y pescados crudos	25 g	475	37	28-32				
Matriz de la muestra	Enriquecimiento primario (Caldo Demi-Fraser)				Enriquecimiento secundario (Caldo Fraser)			Volumen de análisis de la muestra ^(a)
	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (ml)	Temperatura de enriquecimiento (°C)	Tiempo de enriquecimiento (h)	Tamaño de la muestra	Temperatura de enriquecimiento (°C)	Tiempo de enriquecimiento (h)	
Productos lácteos crudos	25 g	225	37	20 a 24	Transfiera 0,1 ml a 10 ml de Caldo Fraser	37	20 a 24	10 µl

(a) Volumen de la muestra transferida a los tubos de solución de Lisis. Consulte el paso 4.6 de la sección Lisis.

PREPARACIÓN DE LA BANDEJA DE CARGA RÁPIDA PARA EL SISTEMA DE DETECCIÓN MOLECULAR 3M™

1. Humedezca un paño 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 3M™.
2. Enjuague la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M con agua.
3. Utilice una toalla desechable para secar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M.
4. Antes de utilizarla, asegúrese de que la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M esté seca.



PREPARACIÓN DEL BLOQUE DE FRÍO PARA EL SISTEMA DE DETECCIÓN MOLECULAR 3M™

Coloque el Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M™ directamente sobre el banco de laboratorio (la Bandeja para el Bloque de Frío del Sistema de Detección Molecular 3M™ no se usa). Use el bloque de frío a temperatura ambiente del laboratorio (20 a 25 °C).

PREPARACIÓN DEL BLOQUE DE CALOR PARA EL SISTEMA DE DETECCIÓN MOLECULAR 3M™

Coloque el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M™ en una unidad de calentamiento de bloques. Encienda la unidad de calentamiento de bloques y ajuste la temperatura para permitir que el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M alcance y mantenga una temperatura de 100 ± 1 °C.

NOTA: Según la unidad de calentamiento, espere aproximadamente 30 minutos para que el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M alcance la temperatura deseada. Con un termómetro calibrado apropiado (por ej., un termómetro de inmersión parcial o un termómetro digital termopar, no un termómetro de inmersión total) colocado en la ubicación designada, verifique que el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M se encuentre a 100 ± 1 °C.

PREPARACIÓN DEL EQUIPO DE DETECCIÓN MOLECULAR 3M™

1. Inicie el Software de Detección Molecular 3M™ e inicie sesión.
2. Encienda el Equipo de Detección Molecular 3M.
3. Cree o edite una corrida con datos para cada muestra. Para obtener detalles, consulte el Manual del Usuario del Sistema de Detección Molecular 3M.

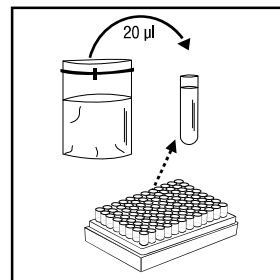
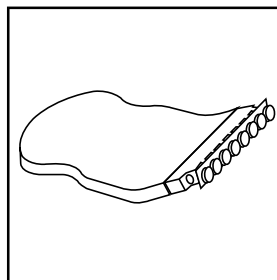
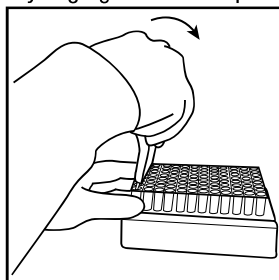
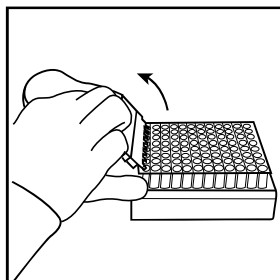
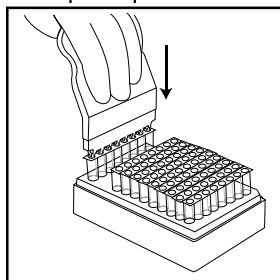
NOTA: El Equipo de Detección Molecular 3M debe alcanzar y mantener una temperatura de 60 °C antes de insertar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M con los tubos de reacción. Este paso de calentamiento lleva unos 20 minutos y aparece indicado por una luz ANARANJADA en la barra de estado del equipo. Una vez que el equipo esté listo para iniciar una corrida, la barra de estado se cambiará a color VERDE.

LISIS

1. Permita que los tubos de Solución para la Lisis (LS) se calienten colocando la gradilla a temperatura ambiente (20 a 25 °C) durante la noche (16 a 18 horas). Las alternativas para que los tubos de LS alcancen temperatura ambiente son colocar los tubos LS sobre el banco de laboratorio durante por lo menos 2 horas, incubar los tubos LS en una incubadora a 37 ± 1 °C durante 1 hora o colocarlos en una unidad de calentamiento de dos bloques durante 30 a 100 °C.
2. Invierta los tubos tapados para mezclarlos, hasta 4 horas antes de su uso.
3. Retire el caldo de enriquecimiento de la incubadora.
4. Se requiere utilizar un tubo de LS para cada muestra y la muestra de Control Negativo (NC) (medio de enriquecimiento estéril).
 - 4.1 Las tiras de tubos de LS pueden cortarse para obtener la cantidad de tubos de LS deseada. Seleccione la cantidad de tubos de LS individuales o de tiras de 8 tubos necesarias. Coloque los tubos de LS en una gradilla vacía.
 - 4.2 Para evitar la contaminación cruzada, destape una tira de tubos de LS por vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
 - 4.3 Transfiera la muestra enriquecida a los tubos de LS como se describe a continuación:

Primero, transfiera cada muestra enriquecida a un tubo de LS. Transfiera el NC **al final**.

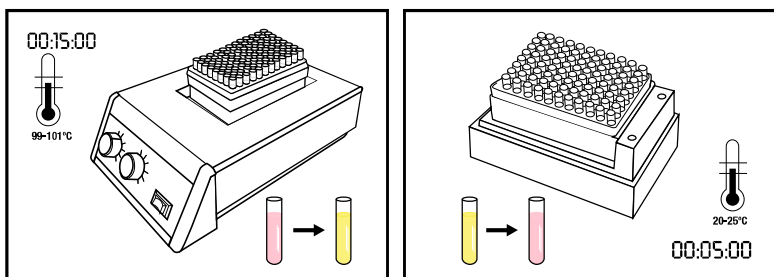
- 4.4 Utilice la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular - Lisis 3M™ para destapar una tira de tubos de LS, una tira por vez.
- 4.5 Deseche la tapa del tubo de LS; si se conservará el lisato para una repetición de prueba, coloque las tapas en un envase limpio para su reaplicación luego de la lisis. Para procesar el lisato conservado, consulte el Apéndice A.
- 4.6 Transfiera 20 µl de la muestra a un tubo de LS a menos que se indique de manera contraria en la tabla de protocolo.
5. Repita el paso 4.2 hasta que cada muestra individual se haya agregado al correspondiente tubo de LS de la tira.



6. Repita los pasos 4.1 a 4.6 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.
7. Cuando ya haya transferido todas las muestras, transfiera 20 µl de NC (medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, Caldo Demi-Fraser) a un tubo de LS. No use agua como un NC.
8. Verifique que la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M sea de 100 ± 1 °C.
9. Coloque la gradilla descubierta de tubos de LS en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M y caliente durante 15 ± 1 minutos. Durante el calentamiento, la solución de LS cambiará de rosado (frío) a amarillo (calor).

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 3M.

10. Retire la gradilla descubierta de tubos de LS del bloque de calentamiento y deje que se enfríe en la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M al menos durante 5 minutos y por un máximo de 10 minutos. Cuando se usa Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M a temperatura ambiente sin la Bandeja para el Bloque de Frío del Sistema de Detección Molecular, debe colocarse directamente sobre el banco de laboratorio. Cuando esté frío, la solución para la lisis volverá a un color rosado.
11. Retire la gradilla de tubos de LS de la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M.

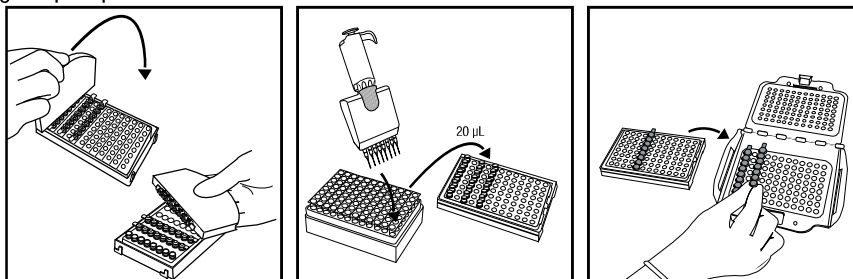


AMPLIFICACIÓN

1. Se requiere un tubo de reactivo para cada muestra y el NC.
 - 1.1 Las tiras de tubos de reactivo pueden cortarse para obtener la cantidad de tubos deseada. Seleccione la cantidad de tubos de reactivo individuales o de tiras de 8 tubos necesaria.
 - 1.2 Coloque los tubos de reactivo en una gradilla vacía.
 - 1.3 Evite mover las perlas de reactivo en el fondo de los tubos.
2. Seleccione 1 tubo de Control de Reactivos (RC) y colóquelo en la gradilla.
3. Para evitar la contaminación cruzada, destape una tira de tubos de reactivo por vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
4. Transfiera el lisato a los tubos de reactivo y al tubo de RC como se indica a continuación:

Transfiera cada lisato de muestra a un tubo de reactivo individual **primero** y luego el NC. Hidrate el tubo de RC **al final**.

5. Utilice la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular - Reactivo 3M™ para destapar una tira de tubos de reactivo, una tira por vez. Deseche la tapa.
 - 5.1 Transfiera 20 µl de lisato de muestra en el tubo de LS al tubo de reactivo correspondiente. Viértalo en ángulo para 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 cada lisato de muestra individual se haya agregado al correspondiente tubo de reactivo de la tira.
 - 5.3 Cubra los tubos de reactivo con la tapa adicional provista y utilice el lado redondeado de la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular - Reactivo 3M para aplicar presión con un movimiento hacia adelante y hacia atrás para asegurarse de que la tapa quede bien ajustada.
 - 5.4 Repita el paso 5.1 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.
 - 5.5 Cuando ya haya transferido todos los lisatos de muestra, repita el paso 4.1 para transferir 20 µl de lisato de NC a un tubo de reactivo.
 - 5.6 Transfiera **20 µl de lisato de NC a un tubo de RC**. Viértalo en ángulo para evitar que se muevan las perlas. Mezcle pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces.
6. Cargue los tubos tapados en una Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M limpia y descontaminada. Cierre y trabe la tapa de la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M.



7. Revise y confirme la corrida configurada en el Software de Detección Molecular 3M.
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 3M en el Equipo de Detección Molecular 3M y cierre la tapa para comenzar con el ensayo. Obtendrá los resultados al cabo de 75 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 3M del Equipo de Detección Molecular 3M y deseche los tubos embebiéndolos 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.



AVISO: Para minimizar el riesgo de falsos positivos a causa de contaminación cruzada, nunca abra tubos de reactivo que contengan ADN amplificado. Esto incluye tubos de Control de Reactivos, reactivos y control de matriz. Siempre deseche los tubos de reactivo sellados embebiéndolos 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.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

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

Las muestras con resultados presuntivos positivos deben ser confirmadas de acuerdo con los procedimientos de operación estándares del laboratorio o mediante la confirmación del método de referencia apropiado^(1,2,3), comenzando con la transferencia del enriquecimiento primario al caldo de enriquecimiento secundario (si se aplica), seguido del subsiguiente sembrado en placa y la confirmación de cepas, utilizando métodos serológicos y bioquímicos apropiados.

NOTA: Incluso una muestra negativa no arrojará una lectura de cero, ya que los reactivos de amplificación del Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M cuentan con una unidad de luz relativa (RLU) "de fondo".

En el extraño caso de que se produjera una cantidad de luz inusual, el algoritmo lo etiquetará como "Inspeccionar". 3M recomienda al usuario repetir el ensayo para aquellas muestras etiquetadas como Inspeccionar. Si el resultado continúa siendo Inspeccionar, proceda con la prueba de confirmación utilizando el método que usted prefiera o según lo especifiquen las regulaciones locales.

Si tiene preguntas acerca de los procedimientos o las aplicaciones específicas, visite nuestro sitio web en www.3M.com/foodsafety o comuníquese con su representante o distribuidor local de 3M.

REFERENCIAS:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods, Section C-6, April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

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

1. Para almacenar un lisato tratado con calor, vuelva a taponar el tubo de lisis con una tapa limpia (consulte "Lisis", 4.5).
2. Almacene de 4 a 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 lisato mezclados en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M y caliéntelos a 100 ± 1 °C durante 5 ± 1 minutos.
6. Retire la gradilla descubierta de tubos de LS del bloque de calentamiento y deje que se enfríe en la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M al menos durante 5 minutos y por un máximo de 10 minutos.
7. Siga el protocolo en la sección "Amplificación" que se detalla arriba.

EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS DE LA ETIQUETA DEL PRODUCTO



Precaución o Advertencia, consulte las instrucciones del producto.



Consulte las instrucciones del producto.



El lote en una caja representa el número de lote.



A continuación del reloj de arena, aparecen un mes y un año que representan la fecha de vencimiento.



Limitaciones para la temperatura de almacenamiento.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Productinstructies

Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes*

MDA2LM096

PRODUCTBESCHRIJVING EN BEOOGD GEBRUIK

De 3M™ Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* wordt gebruikt met het 3M™ Moleculair Detectiesysteem voor de snelle en specifieke detectie van *Listeria*-soorten in verrijkte voedingsmiddelen en omgevingsmonsters.

De 3M Moleculair detectie assay maken gebruik van lusgebonden isothermische amplificatie voor de snelle amplificatie van nucleïnezuurschakels met een hoge specificiteit en gevoeligheid, in combinatie met bioluminescentie om de amplificatie op te sporen. Vermoedelijke positieve resultaten worden onmiddellijk gerapporteerd, terwijl negatieve resultaten pas na de voltooiing van de analyse worden weergegeven. Vermoedelijke positieve resultaten moeten worden bevestigd door middel van de door u verkozen methode of volgens de lokale regelgevingen^(1, 2, 3).

De 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* is bedoeld voor gebruik in een laboratoriumomgeving door professionals geschoold in laboratoriumtechnieken. 3M heeft het gebruik van dit product niet gedocumenteerd in andere sectoren dan de voedings- of dranksector. 3M heeft dit product bijvoorbeeld niet gedocumenteerd voor watertesten of farmaceutische, cosmetische, klinische of veterinaire monsters. De 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* is niet geëvalueerd met alle mogelijke testprotocollen of met alle mogelijke bacteriestammen.

Zoals bij alle testmethoden kan de bron van het verrijkingsmedium de resultaten beïnvloeden. 3M heeft de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* geëvalueerd met Demi Fraser bouillon die ijzerammoniumcitraat bevat. Hieronder volgt een kenmerkende formulering van dit medium.

Kenmerkende formulering (g/l) Demi Fraser bouillon (basis)

Natriumchloride	20 g
Dibasisch, watervrij natriumfosfaat*	9,6 g
Rundvleesextract	5,0 g
Caseïnehydroxylaat	5,0 g
Peptische vertering van dierlijk weefsel	5,0 g
Gistextract	5,0 g
Lithiumchloride	3,0 g
Monobasisch kaliumfosfaat	1,35 g
Esculine	1,0 g
Acriflavine hydrochloride	0,0125 g
Nalidixinezuur	0,01 g
* Substituut: dibasisch, gedehydrateerd natriumfosfaat	12,0 g

Supplement voor Fraser bouillon

(Ingrediënten per flacon van 10 ml. Aan één liter basismedium wordt één flacon toegevoegd.)

Ijzerammoniumcitraat	0,5 g/10 ml
----------------------	-------------

Uiteindelijke pH 7,2 ± 0,2 bij 25 °C

Het 3M™ Moleculair Detectieinstrument is bedoeld voor gebruik met monsters die een warmtebehandeling hebben ondergaan tijdens de lysestap van de analyse, die ontwikkeld is om de in het monster aanwezige organismen te vernietigen. Monsters die tijdens de lyseanalysestap niet de correcte warmtebehandeling hebben ondergaan, kunnen als een potentieel biologisch gevaar worden beschouwd en mogen NIET in het 3M Moleculaire Detectieinstrument worden geplaatst.

3M Voedselveiligheid is ISO (Internationale Organisatie voor Standaardisatie) 9001 gecertificeerd met betrekking tot het ontwerp en de productie.

De 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* testset bevat 96 testen, beschreven in tabel 1.

Tabel 1. Setonderdelen

Artikel	Identificatie	Hoeveelheid	Inhoud	Opmerkingen
Buisjes met lyse-oplossing (LO)	Roze oplossing in doorzichtige buisjes	96 (12 stroken van 8 buisjes)	580 µL LO per buisje	In rek en klaar voor gebruik
Reagensbuisjes voor <i>Listeria monocytogenes</i>	Gele buisjes	96 (12 stroken van 8 buisjes)	Gevriesdroogde specifieke amplificatie- en detectiemix	Klaar voor gebruik
Extra doppen	Gele doppen	96 (12 stroken van 8 doppen)		Klaar voor gebruik
Reagenscontrole (RC)	Doorzichtige buisjes met kliksluiting	16 (2 zakjes met 8 individuele buisjes)	Gevriesdroogd controle DNA, amplificatie- en detectiemix	Klaar voor gebruik
Snelstartgids		1		

De Negatieve Controle, die niet in de set wordt verschaft, is een steriel verrijkingsmedium, bijv. Demi Fraser bouillon. Gebruik geen water als Negatieve Controle.



VEILIGHEID

De gebruiker moet alle veiligheidsinformatie in de instructies van het 3M Moleculair Detectiesysteem en de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* lezen en in acht nemen. Bewaar de veiligheidsinstructies om deze later te kunnen raadplegen.

- ⚠ **WAARSCHUWING:** geeft een gevaarlijke situatie aan, die als ze niet vermeden wordt, de dood of ernstig letsel en/of materiële schade tot gevolg kan hebben.
- ⚠ **OPGELET:** geeft een gevaarlijke situatie aan die, als ze niet vermeden wordt, kan resulteren in lichte of matige verwondingen en/of materiële schade.
- KENNISGEVING:** geeft een mogelijk gevaarlijke situatie aan die, als ze niet vermeden wordt, kan resulteren in materiële schade.

⚠ WAARSCHUWING

Gebruik de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* niet voor de diagnose van aandoeningen bij mensen of dieren.

De methode van de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* genereert mogelijk voldoende *Listeria monocytogenes* om doodgeboortes en sterfgevallen te veroorzaken bij zwangere vrouwen en patiënten met immunodeficiëntie die eraan worden blootgesteld.

De gebruiker moet zijn personeel scholen in de huidige juiste testtechnieken: bijvoorbeeld, goede laboratoriumpraktijken, ISO 17025⁽⁴⁾ of ISO 7218⁽⁵⁾.

Om de risico's van een vals negatief resultaat dat tot de vrijlating van het besmet product leidt te verminderen, doet u het volgende:

- Volg het protocol en voer de tests exact uit zoals aangegeven in de productinstructies.
- Bewaar de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* zoals aangegeven op de verpakking en in de productinstructies.
- Gebruik de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* altijd voor de vervaldatum.
- Gebruik de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* met voedingsmiddelen- en omgevingsmonsters die intern of door een derde partij zijn gevalideerd.
- Gebruik de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* alleen voor oppervlakken, ontsmettingsmiddelen, protocollen en bacteriestammen die intern of door een derde partij zijn gevalideerd.
- Voor een omgevingsmonster met neutraliserende buffer met arylsulfonaatcomplex, voert u een 1:2 verdunning uit alvorens te testen (1 deel monster in 1 deel steriele verrijkingbouillon), 3M™ monsterverwerkingsproducten met neutraliserende buffer: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSSL10NB, HS10NB en HS119510NB.

Om het risico op blootstelling aan biologische en chemische gevaren te beperken, doet u het volgende:

- Het wordt ten zeerste aanbevolen vrouwelijk laboratoriumpersoneel te informeren over het risico voor een ontwikkelende foetus bij een infectie van de moeder ten gevolge van blootstelling aan *Listeria monocytogenes*.
- Voer de pathogentesten uit in een goed uitgerust laboratorium onder begeleiding van opgeleid personeel.
- Volg altijd de standaard veiligheidsvoorschriften voor laboratoria op, waaronder het dragen van toepasselijke beschermende kleding en oogbescherming bij het behandelen van reagentia en besmette monsters.
- Vermijd contact met de inhoud van de verrijkingsmedia en reagensbuisjes na amplificatie.
- Voer de verrijkte monsters af in overeenstemming met de industriënormen.

Om de risico's op kruisbesmetting te beperken tijdens de voorbereiding van de test, doet u het volgende:

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

Om de risico's van milieuverontreiniging te verminderen, doet u het volgende:

- Volg de huidige industriënormen voor het afvoeren van verontreinigd afval.

⚠ OPGELET

- Overschrijd de aanbevolen temperatuurstelling op de verwarmers niet.
- Overschrijd de aanbevolen verwarmingstijd niet.
- Gebruik een geschikte, gekalibreerde thermometer om de temperatuur van het 3M™ Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk te controleren (bijv. gedeeltelijk ondergedompelde thermometer of digitale thermokoppel thermometer, geen volledig ondergedompelde thermometer). De thermometer moet op de aangewezen locatie in het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk geplaatst worden.

KENNISGEVING

Om de risico's op kruisbesmetting te beperken tijdens de voorbereiding van de test, doet u het volgende:

- Gebruik een steriele spuitbusbarrière (gefilterd), pipetpunten geschikt voor moleculaire biologie worden aanbevolen.
- Gebruik een nieuwe pipettip bij elke monsteroverdracht.
- Pas goede laboratoriumpraktijken toe bij de monsteroverdracht van de verrijking naar het lysebuisje. Om pipetbesmetting te voorkomen, kan de gebruiker ervoor kiezen een extra overdrachtstap toe te voegen. De gebruiker kan bijvoorbeeld elk verrijkt monster in een steriel buisje overbrengen.
- Gebruik waar mogelijk een moleculair biologiewerkstation met een kiemdodende lamp.

Om het risico op valse positieve resultaten te beperken, doet u het volgende:

- Open de buisjes nooit na de amplificatie;
- Verwijder de verontreinigde buisjes altijd door ze 1 uur lang onder te dompelen in een huishoudbleekmiddeloplossing van 1-5% (volume in water), uit de buurt van de testbereidingsruimte.

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor bijkomende informatie en de lokale regelgeving inzake afvalverwerking.

Als u vragen hebt over specifieke toepassingen of procedures, kunt u onze website www.3M.com/foodsafety bezoeken of contact opnemen met uw plaatselijke vertegenwoordiger of distributeur van 3M.

BEPERKTE GARANTIE / BEPERKT VERHAAL

BEHALVE WAAR UITDRUKKELIJK VERMELD IN EEN BEPERKTE GARANTIEBEPALING VAN EEN INDIVIDUELE PRODUCTVERPAKKING, WIJST 3M ALLE UITDRUKKELIJKE EN IMPLICIETE GARANTIES AF, MET INBEGRIIP VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT, ELKE GARANTIE MET BETREKKING TOT DE GOEDE WERKING EN DE GESCHIKTHEID VOOR EEN BEPAALD DOEL. Als een 3M Voedselveiligheidsproduct gebrekkig is, zal 3M of zijn gevolmachtigde distributeur naar eigen keuze het product vervangen of de aankoopprijs van het product terugbetalen. Dit is het enige rechtsmiddel waarover u beschikt. Indien u vermoedt dat een product gebrekkig is, dan moet u 3M daarvan binnen de 60 dagen na het vaststellen op de hoogte brengen. Bel onze klantenservice (+31 (0)71 5450 342 of +32 (0)2 722 5224) of uw erkende vertegenwoordiger van 3M Voedselveiligheidsproducten, voor een autorisatie voor het retourneren van de goederen.

BEPERKING VAN AANSPRAKELIJKHEID

3M IS NIET AANSPRAKELIJK VOOR ENIG VERLIES OF SCHADE, ONGEACHT OF HET GAAT OM RECHTSTREEKSE, ONRECHTSTREEKSE, SPECIALE, INCIDENTELE OF GEVOLGSCHADE, MET INBEGRIIP VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT WINSTDERVING. In geen geval zal de wettelijke aansprakelijkheid van 3M onder om het even welke juridische theorie de aankoopprijs van het zogenaamd gebrekkige product overschrijden.

VERANTWOORDELIJKHEID VAN DE GEBRUIKER

Gebruikers worden geacht zich vertrouwd te maken met de productinstructies en -informatie. Bezoek onze website www.3M.com/foodsafety, of neem contact op met uw plaatselijke 3M-vertegenwoordiger of -distributeur voor meer informatie.

Bij het kiezen van een testmethode is het belangrijk om te erkennen dat externe factoren zoals proefmethoden, testprotocollen, proefvoorbereiding en -behandeling en laboratoriumtechniek invloed kunnen hebben op de resultaten.

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

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

Zoals bij elke testmethode, garanderen de verkregen resultaten van het gebruik van een 3M Voedselveiligheidsproduct de kwaliteit van de geteste matrices of processen niet.

Om klanten te helpen bij het evalueren van de methode voor verschillende voedselmatrices heeft 3M de 3M™ Moleculaire Detectie - Matrix controleset ontwikkeld. Gebruik, indien nodig, de 3M Matrix controle (MC) om te bepalen of de matrix invloed kan hebben op de resultaten van de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes*. Test meerdere monsters die representatief zijn voor de matrix, b.v. monsters met een verschillende oorsprong, tijdens een willekeurige goedkeuringsperiode bij het aannemen van de 3M-methode of bij het testen van nieuwe of onbekende matrices of matrices die grondstof- of procesveranderingen hebben ondergaan.

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

OPSLAG EN AFVALVERWERKING

Bewaar de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* bij 2-8 °C. Niet invriezen. Bewaar de set tijdens opslag uit het licht. Controleer na het openen van de set of het foliezakje niet beschadigd is. Gebruik het product niet als het zakje beschadigd is. Na het openen moeten de ongebruikte reagensbuisjes altijd worden bewaard in de hersluitbare zak met droogmiddel om de stabiliteit van de gevriesdroogde reagentia te behouden. Bewaar opnieuw verzegelde zakjes tussen de 2 en 8 °C niet langer dan 60 dagen.

Gebruik de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* niet na de vervaldatum. De vervaldatum en het partijnummer zijn terug te vinden op het etiket aan de buitenkant van de doos. Na gebruik bevatten het verrijkingsmedium en de buisjes van de 3M Moleculair detectie assay 2 *Listeria monocytogenes* mogelijk pathogeen materiaal. Na het voltooiën van de testen, dient u de van kracht zijnde industriënormen op te volgen betreffende de afvoer van besmet afval. Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor bijkomende informatie en de lokale regelgeving inzake afvalverwerking.

GEBRUIKSAANWIJZINGEN

Volg alle instructies zorgvuldig op. Het niet opvolgen van de instructies kan onnauwkeurige resultaten tot gevolg hebben.

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

MONSTERVERRIJKING

Tabel 2 biedt richtlijnen voor de verrijking van voedsel- en omgevingsmonsters. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om alternatieve bemonsteringsprotocollen of verdunningsverhoudingen te valideren om ervoor te zorgen dat deze testmethode voldoet aan de gebruikerscriteria.

Voedingsmiddelen

1. Laat het Demi Fraser bouillon verrijkingsmedium (bevat ijzerammoniumcitraat) de omgevingstemperatuur van het laboratorium aannemen.
2. Combineer het verrijkingsmedium en monster op steriele wijze volgens Tabel 2. Voor alle vlees- en hoge partikelmonsters is het gebruik van filterzakken aanbevolen.
3. Homogeniseer grondig met behulp van een blender, stomacher of handmixer gedurende $2 \pm 0,2$ minuten. Incubeer bij 37 ± 1 °C volgens Tabel 2.
4. Voor rauwe zuivelproducten brengt u 0,1 ml van de primaire verrijking over in 10 ml Fraser bouillon. Incubeer bij 37 ± 1 °C gedurende 20-24 uur.

Omgevingsmonsters

Apparaten voor monsternamen kunnen een spons zijn die vochtig gemaakt werd met een neutraliserende oplossing om het effect van de ontsmettingsmiddelen te deactiveren. 3M raadt het gebruik van biocidevrije cellulosesponzen aan. Neutraliserende oplossingen kunnen Dey-Engley (D/E) neutraliserende buffer of Lethen bouillon zijn. Het wordt aanbevolen om het gebied na monsteropname te ontsmetten.

WAARSCHUWING: als u ervoor kiest om een neutraliserende bufferoplossing (NB) te gebruiken dat een arylsulfonaatcomplex bevat, zoals de hydraterende oplossing voor de spons, moet u een 1:2 verdunning (1 deel van het monster in 1 deel steriele verrijkingbouillon) uitvoeren van het verrijkte omgevingsmonster om de risico's van een fout negatief resultaat waardoor verontreinigde producten vrijkomen te verminderen.

De aanbevolen grootte van het monstergebied om de aanwezigheid of afwezigheid van het pathogeen op het oppervlak te verifiëren, is ten minste 100 cm² (10 cm x 10 cm of 4"x4"). Wanneer u monsters verzamelt met een spons, ga dan over het volledige gebied door in twee richtingen te wrijven (van links naar rechts en dan van boven naar onder) of verzamel omgevingsmonsters door uw huidig monsteropnameprotocol of de FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ of ISO 18593⁽⁶⁾ richtlijnen te volgen.

1. Laat het Demi Fraser bouillon verrijkingsmedium (bevat ijzerammoniumcitraat) de omgevingstemperatuur van het laboratorium aannemen.
2. Combineer het verrijkingsmedium en het monster op aseptische wijze overeenkomstig Tabel 2.
3. Homogeniseer grondig met behulp van een blender, stomacher of handmixer gedurende 2 ± 0,2 minuten. Incubeer bij 37 ± 1 °C gedurende 24-30 uur.

Tabel 2: Verrijkingsprotocollen bij het gebruik van Demi Fraser verrijkingbouillon

Monstermatrix	Monster-grootte	Volume verrij-kingsbouillon (ml)	Verrijkings-temperatuur (°C)	Verrijkings-tijd (uur)				
Warmtebehandeld, gekookt, gerookt vlees, gevogelte, zeevruchten en vis Warmtebehandelde/ gepasteuriseerde zuivelproducten Fruit en groenten Voedsel met meerdere bestanddelen	25 g	225	37	24-30				
Omgevingsmon- sters	1 spons	100 of 225	37	24-30				
	1 swab	10	37	24-30				
Rauw vlees, gevogelte, zeevruchten, vis	25 g	475	37	28-32				
Monstermatrix	Primaire verrijking (Demi Fraser bouillon)				Secundaire verrijking (Fraser bouillon)			Volume monster- analyse ^(a)
	Monster- grootte	Volume verrij- kingsbouillon (ml)	Verrijkings- temperatuur (°C)	Verrijkings- tijd (uur)	Monster- grootte	Verrijkings- temperatuur (°C)	Verrijkings- tijd (uur)	
Rauwe zuivelproducten	25 g	225	37	20-24	Breng 0,1 ml over in 10 ml Fraser bouillon	37	20-24	10 µl

(a) Volume monster overgebracht naar buisjes met lyse-oplossing. Raadpleeg stap 4.6 van het lysehoofdstuk.

VOORBEREIDING VAN DE 3M™ MOLECULAIRE DETECTIE - SPEED LOADER TRAY

1. Maak een doek vochtig met een bleekmiddeloplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water) en reinig de 3M™ Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray.
2. Spoel de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray met water.
3. Gebruik een wegwerpdoekje om de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray af te vegen.
4. Zorg ervoor dat de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray droog is voordat u hem gebruikt.

VOORBEREIDING VAN HET 3M™ MOLECULAIRE DETECTIE - KOELBLOKINZETSTUK

Plaats het 3M™ Moleculaire Detectie - Koelblok rechtstreeks op de laboratoriumtafel (de 3M™ Moleculaire Detectie - Lade voor koelblok wordt niet gebruikt). Gebruik het koelblok op de omgevingstemperatuur van het laboratorium (20-25 °C).

VOORBEREIDING VAN HET 3M™ MOLECULAIRE DETECTIE - VERWARMINGSBLOKINZETSTUK

Plaats het 3M™ Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk in een droge blokverhitter. Schakel de droge blokverhitter in en stel de temperatuur in zodat het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk 100 ± 1 °C kan bereiken en behouden.

OPMERKING: afhankelijk van de verhitter, laat u het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk ongeveer 30 minuten op temperatuur komen. Gebruik een geschikte, gekalibreerde thermometer (bijv. gedeeltelijk ondergedompelde thermometer of digitale thermokoppel thermometer, geen volledig ondergedompelde thermometer) geplaatst op de aangewezen locatie om te controleren dat het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk zich op 100 ± 1 °C bevindt.

VOORBEREIDING VAN HET 3M™ MOLECULAIRE DETECTIEINSTRUMENT

1. Start de 3M™ Moleculaire Detectiesoftware op en meld u aan.
2. Zet het 3M Moleculaire Detectieinstrument aan.
3. Creëer of bewerk de gegevens van elk monster. Raadpleeg de handleiding van het 3M Moleculair Detectiesysteem voor meer informatie.

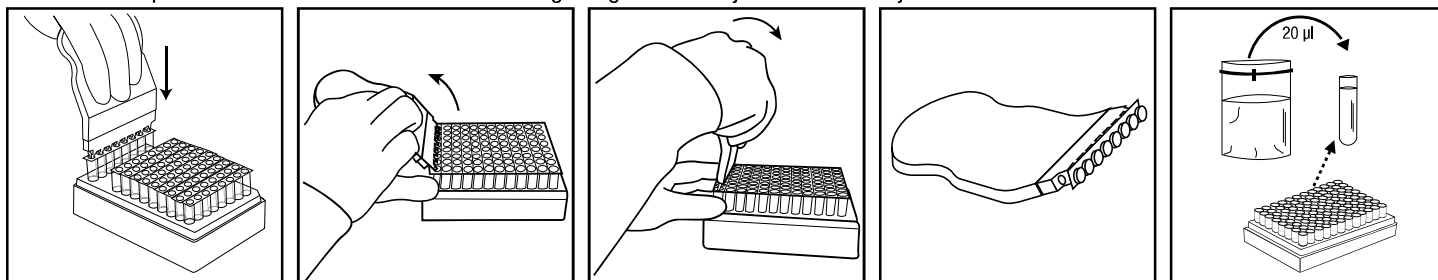
OPMERKING: het 3M Moleculaire Detectieinstrument moet een temperatuur van 60 °C bereiken en behouden voordat u de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray met reagensbuisjes invoert. Deze verhittingsstap duurt ongeveer 20 minuten en wordt aangeduid met een ORANJE licht op de statusbalk van het instrument. Wanneer het instrument klaar is voor gebruik, zal de statusbalk GROEN worden.

LYSE

1. Laat de buisjes met lyse-oplossing (LO) opwarmen door het rek een nacht lang (16-18 uur) op kamertemperatuur (20-25 °C) te plaatsen. U kunt de LO-buisjes eveneens op kamertemperatuur brengen door de LO-buisjes minstens 2 uur lang op de laboratoriumtafel te plaatsen, de LO-buisjes 1 uur lang te incuberen in een incubator bij 37 ± 1 °C of ze 30 seconden lang in een droge dubbelblokverhitter op 100 °C te plaatsen.
2. Keer de te mengen buisjes met dop om tot 4 uur voor gebruik.
3. Haal de verrijkingsbouillon uit de incubator.
4. Er is een LO-buisje vereist voor elk monster en het Negatieve Controle (NC) (steriel verrijkingsmedium)-monster.
 - 4.1 LO-buisstrookjes kunnen gesneden worden tot op het gewenste aantal LO-buisjes. Selecteer het aantal individuele LO-buisjes of 8-buisstroken dat nodig is. Plaats de LO-buisjes in een leeg rek.
 - 4.2 Haal de LO-buisstroken een per een uit de verpakking en gebruik een nieuwe pipettip voor elke overdrachtstap om zo kruisbesmetting te voorkomen.
 - 4.3 Breng het verrijkt monster over in de LO-buisjes zoals hieronder beschreven:

Breng **eerst** ieder verrijkt monster over in een individuele LO-buis. Breng de NC het **laatst** over.

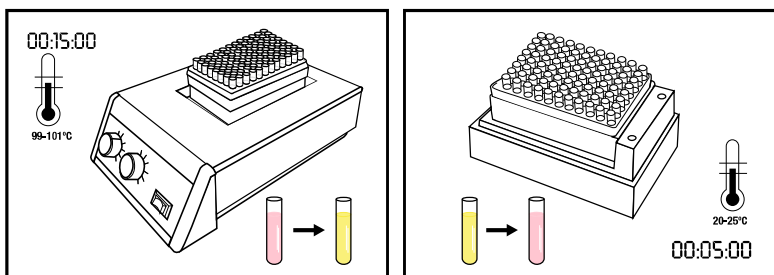
- 4.4 Gebruik het 3M™ Moleculaire Detectie Cap/Decap gereedschap - Lyse om een LO-buisstrook open te doen - één strook per keer.
- 4.5 Gooi de dop van het LO-buisje weg - als er lysaat wordt bewaard voor een hertest, plaats de doppen dan in een schone bak om ze na de lyse opnieuw aan te brengen. Zie Appendix A voor de verwerking van bewaard lysaat.
- 4.6 Breng 20 µL monster over in een LO-buisje, tenzij dit anders in de protocoltabel wordt aangegeven.
5. Herhaal stap 4.2 totdat het individuele monster is toegevoegd aan het bijhorende LO-buisje in de strook.



6. Herhaal stappen 4.1 tot 4.6 voor alle monsters die worden getest.
7. Wanneer alle monsters zijn overgebracht, brengt u 20 µL NC (steriel verrijkingsmedium, bijv. Demi Fraser bouillon) over in een LO-buisje. Gebruik geen water als NC.
8. Controleer dat de temperatuur van het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk zich op 100 ± 1 °C bevindt.
9. Plaats het onbedekte rek met LO-buisjes in het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk en verwarm 15 ± 1 minuten. Tijdens de verwarming verandert de LO-oplossing van roze (koel) naar geel (heet).

Monsters die tijdens de lyseanalysestap niet de correcte warmtebehandeling hebben ondergaan, kunnen als een potentieel biologisch gevaar worden beschouwd en mogen NIET in het 3M Moleculaire Detectieinstrument worden geplaatst.

10. Haal het onbedekte rek met LO-buisjes uit het verwarmingsblok en laat het minstens 5 minuten en hoogstens 10 minuten afkoelen in het 3M Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk. Het 3M Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk, gebruikt op kamertemperatuur zonder de Moleculaire Detectie - Lade voor Koelblok, moet rechtstreeks op de laboratoriumtafel leunen. Zodra de lyse-oplossing koel is, zal hij een roze kleur krijgen.
11. Haal het rek met LO-buisjes uit het 3M Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk.

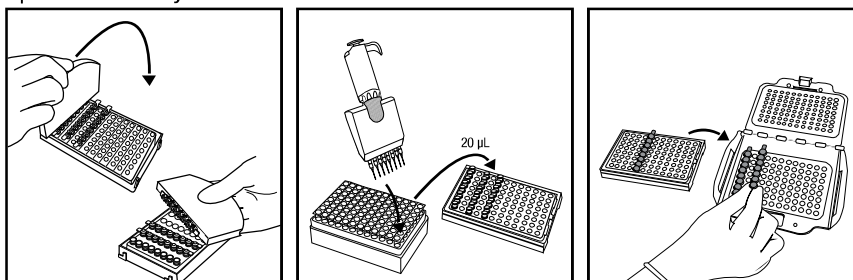


AMPLIFICATIE

1. Er is een reagensbuisje vereist voor elk monster, evenals de NC.
 - 1.1 De reagensbuisstroken kunnen geknipt worden tot aan het gewenste aantal reagensbuisjes. Selecteer het aantal vereiste individuele reagensbuisjes of 8-buis stroken.
 - 1.2 Plaats reagensbuisjes in een leeg rek.
 - 1.3 Vermijd dat u de reagens op de bodem van de buisjes beweegt.
2. Selecteer 1 buisje voor Reagenscontrole (RC) en plaats hem in het rek.
3. Om kruisbesmetting te vermijden, opent u één strook met reagensbuisjes per keer en gebruikt u een nieuw pipetuiteinde voor elke overdrachtstap.
4. Breng lysaat over naar de reagensbuisjes en het RC-buisje zoals hieronder wordt beschreven:

Breng elk lysaatmonster **eerst** over naar de individuele reagensbuisjes, gevolgd door de NC. Hydrateer de RC-buis het **laatst**.

5. Gebruik het 3M™ Moleculaire Detectie Cap/Decap gereedschap - Lyse om een LO-buisstrook open te doen - één buisstrook per keer. Gooi de dop weg.
 - 5.1 Breng 20 µL lysaatmonster over naar het LO-buisje in het bijhorende reagensbuisje. Laat het mengsel in een hoek uitlopen om de pellets niet te veel te bewegen. Meng door voorzichtig 5 keer naar boven en naar onder te pipetteren.
 - 5.2 Herhaal stap 5.1 totdat elk individueel lysaatmonster is toegevoegd aan het bijhorende reagensbuisje in de strook.
 - 5.3 Bedek het reagensbuisje met de bijgeleverde extra dop en gebruik de afgeronde zijde van het 3M Moleculaire Detectie Cap/Decap gereedschap - Reagens om druk uit te oefenen in een voor- en achterwaartse beweging om ervoor te zorgen dat de dop goed vastzit.
 - 5.4 Herhaal stap 5.1 voor alle monsters die worden getest.
 - 5.5 Zodra alle lysaatmonsters zijn overgebracht, herhaalt u 4.1 om 20 µL NC-lysaat over te brengen naar een reagensbuisje.
 - 5.6 Breng **20 µL NC-lysaat in een RC-buisje** over. Laat het mengsel in een hoek uitlopen om de pellets niet te veel te bewegen. Meng door voorzichtig 5 keer naar boven en naar onder te pipetteren.
6. Plaats de buisjes met deksel in een propere en ontsmette 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray. Sluit en vergrendel het deksel van de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray.



7. Reviseer en bevestig de geconfigureerde instelling en start de 3M Moleculaire Detectiesoftware.
8. Klik op de Startknop van de software en selecteer het te gebruiken instrument. Het deksel van het geselecteerde instrument opent automatisch.
9. Plaats de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray in het 3M Moleculaire Detectieinstrument en sluit het deksel om de analyse te beginnen. De resultaten zijn binnen 75 minuten beschikbaar, maar positieve resultaten kunnen sneller gedetecteerd worden.
10. Als de test voltooid is, haal dan de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray uit het 3M Moleculaire Detectieinstrument en verwijder de buisjes door ze eerst gedurende 1 uur, op een plaats die ver verwijderd is van het testgebied, in een bleekmiddeloplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water) te dompelen.

KENNISGEVING: om het risico op valse positieve resultaten door kruisbesmetting te beperken, dient u nooit de reagensbuisjes met geamplificeerd DNA te openen. Dit geldt ook voor de buisjes voor Reagenscontrole, Reagens en Matrix controle. Gooi verzegelde reagensbuisjes weg door ze eerst gedurende 1 uur, op een plaats die ver verwijderd is van het testgebied, in een bleekmiddeloplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water) te dompelen.

RESULTATEN EN INTERPRETATIE

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

Vermoedelijke positieve monsters moeten worden bevestigd overeenkomstig de standaardwerkvoorschriften van het laboratorium of volgens de bevestiging van de relevante referentiemethode^(1,2,3), te beginnen met de overdracht van de primaire verrijkte tot de secundaire verrijkte bouillon (indien van toepassing), gevolgd door latere plating en bevestiging van adequate methoden voor biochemische en serologische isolaten.

OPMERKING: zelfs een ongeldig monster zal u geen nulresultaat geven, want de 3M Moleculaire Analyse 2 *Listeria monocytogenes* amplificatiereagentia hebben een 'achtergrond' van relatieve lichteheid (RLU).

In het onwaarschijnlijke geval van ongebruikelijke lichtuitvoer, definieert het algoritme dit als 'Inspecteren'. 3M beveelt de gebruiker aan om de test voor de te inspecteren monsters opnieuw uit te voeren. Als het resultaat nog steeds 'Inspecteren' is, voert u een bevestigingstest uit aan de hand van uw voorkeursmethode of zoals opgedragen door de plaatselijke regelgeving

Als u vragen hebt over specifieke toepassingen of procedures, kunt u onze website www.3M.com/foodsafety bezoeken of contact opnemen met uw plaatselijke vertegenwoordiger of distributeur van 3M.

REFERENTIES:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

Appendix A. Protocolonderbreking: het bewaren en hertesten van warmtebehandelde lysaten

1. Om een warmtebehandeld lysaat te bewaren, plaatst u opnieuw een schone dop op het lysebuisje (zie 'Lyse', 4.5)
2. Bewaar maximaal 72 uur bij 4 tot 8 °C.
3. Bereid een bewaard monster voor op de amplificatie door het 2-3 keer om te draaien om het te mengen.
4. Haal de doppen van de buisjes.
5. Plaats de gemengde lysaatbuisjes op het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk en verwarm gedurende 5 ± 1 minuten op 100 ± 1 °C.
6. Haal het onbedekte rek met LO-buisjes uit het verwarmingsblok en laat het minstens 5 minuten en hoogstens 10 minuten afkoelen in het 3M Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk.
7. Ga verder met het protocol vanaf de rubriek 'Amplificatie', die hierboven wordt omschreven.

VERKLARING VAN PRODUCTLABELMONSTERS



Opgelet of Waarschuwing, zie productinstructies.



Raadpleeg gebruiksaanwijzingen.



Het partijnummer is uniek voor de partij in de doos.



De zandloper wordt gevolgd door een maand en een jaar en staat voor de vervaldatum.



Beperkingen voor de opslagtemperatuur.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Produktinformation

Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes*

MDA2LM096

PRODUKTBESKRIVNING OCH AVSEDD ANVÄNDNING

3M™ Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* används med 3M™ Molekylärt Detektionssystem för snabb och specifik detektion av *Listeria*-arter i berikade livsmedels- och miljöprover.

3M Molecular Detection Assays använder LAMP-teknik (loop-mediated isothermal amplification) för att snabbt amplifiera nukleinsyrasekvenser med hög specificitet och känslighet kombinerat med bioluminescens för att detektera amplifieringen. Presumtivt positiva resultat rapporteras i realtid medan negativa resultat visas när analysen har slutförts. Presumtivt positiva resultat bör bekräftas med föredragen metod eller enligt lokala bestämmelser^(1, 2, 3).

3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* är avsedd för användning i en laboratoriemiljö av yrkespersoner med utbildning i laboratorieteknik. 3M har inte dokumenterat användningen av denna produkt inom andra områden än livsmedels- och dryckesindustrin. 3M har exempelvis inte dokumenterat produkten för tester av vatten-, läkemedels-, kosmetik-, kliniska eller veterinärprover. 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* har inte utvärderats med alla tänkbara testprotokoll eller med alla tänkbara bakteriestammar.

I likhet med alla testmetoder kan källan till anrikningsmediet påverka resultaten. 3M har utvärderat 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* med Halv Fraser buljong innehållande järnammoniumcitrat. En typisk beredning av detta medium anges nedan.

Typisk beredning av Halv Fraser buljong (g/l)

Natriumklorid	20 g
Natriumfosfat, dibasisk, vattenfri*	9,6 g
Oxköttsextrakt	5,0 g
Pankreasdigererat kasein	5,0 g
Peptiskt digererat djurvävnad	5,0 g
Jästextrakt	5,0 g
Litiumklorid	3,0 g
Kaliumfosfat, monobasisk	1,35 g
Eskulin	1,0 g
Akriflavin HCl	0,0125 g
Nalidixinsyra	0,01 g
* Ersättning: Natriumfosfat, dibasisk, dihydrat	12,0 g

Supplement till Fraser buljong

(Ingredienser per 10 ml flaska. En flaska tillsätts till en liter bassubstrat.)

Järnammoniumcitrat	0,5 g/10 ml
--------------------	-------------

Slutligt pH 7,2 ± 0,2 vid 25 °C

3M™ Molekylärt Detektionsinstrument är avsett att användas med prover som har värmebehandlats under analysens lyseringssteg, vilket är utformat för att förstöra organismer i provet. Prover som inte har värmebehandlats på korrekt sätt under analysens lyseringssteg bör betraktas som en potentiell biologisk fara och ska INTE föras in i 3M Molekylärt Detektionsinstrument.

3M Food Safety är certifierat mot ISO (Internationella standardiseringsorganisationen) 9001 avseende konstruktion och tillverkning.

3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* testsats innehåller 96 tester som beskrivs i tabell 1.

Tabell 1. Satsens delar

Artikel	Identifikation	Antal	Innehåll	Kommentarer
Lyseringslösningrör (LL)	Rosa lösning i genomskinliga rör	96 (12 remsor om 8 rör)	580 µl LL per rör	I ställ och klara att användas
<i>Listeria monocytogenes</i> reagensrör	Gula rör	96 (12 remsor om 8 rör)	Frystorkad specifik amplifierings- och detektionsblandning	Klar att användas
Extra lock	Gula lock	96 (12 remsor om 8 lock)		Klar att användas
Reagenskontroll (RK)	Genomskinliga rör med flipplock	16 (2 påsar om 8 enskilda rör)	Frystorkad kontroll-DNA, amplifierings- och detektionsblandning	Klar att användas
Snabbstartsguide		1		

Den negativa kontrollen, som inte medföljer i satsen, är ett sterilt anrikningsmedium, t.ex. Halv Fraser buljong. Använd inte vatten som negativ kontroll.

SÄKERHET

Användaren ska läsa, förstå och följa all säkerhetsinformation i anvisningarna till 3M Molekylärt Detektionssystem och 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes*. Behåll dessa säkerhetsföreskrifter för framtida bruk.

- ⚠ **VARNING:** Indikerar en farlig situation som, om den inte undviks, kan resultera i allvarliga eller dödliga personskador och/eller skador på egendom.
- ⚠ **FÖRSIKTIGHET:** Indikerar en farlig situation som, om den inte undviks, kan resultera i mindre eller måttliga personskador och/eller skador på egendom.

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

⚠ VARNING

Använd inte 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* för diagnostisering av tillstånd hos människor eller djur.

3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes*-metoden kan generera nivåer av *Listeria monocytogenes* som är tillräckliga för att orsaka dödfödselar och dödsfall hos gravida kvinnor och personer med nedsatt immunförsvar vid exponering.

Användaren måste utbilda sin personal i gällande och korrekt testteknik: till exempel God laboratoriesed, ISO 17025⁽⁴⁾ eller ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Följ protokollet och utför testerna exakt så som beskrivs i produktanvisningarna.
- Förvara 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* enligt föreskrifterna på förpackningen och i produktanvisningarna.
- Använd alltid 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* före utgångsdatumet.
- Använd 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* med livsmedels- och miljöprover som har validerats internt eller av tredje part.
- Använd endast 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* med ytor, desinficeringsmedel, protokoll och bakteriestammar som har validerats internt eller av tredje part.
- Ett miljöprov som innehåller neutraliserande buffert med arysulfonatkomplex ska spädas till 1:2 innan det testas (1 del prov till 1 del steril anrikningsbuljong). 3MTM provhanteringsprodukter som innehåller neutraliserande buffert: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XLSL10NB, HS10NB och HS119510NB.

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

- Det rekommenderas starkt att kvinnlig laboratoriepersonal informeras om riskerna som ett foster under utveckling utsätts för till följd av infektion hos modern genom exponering för *Listeria monocytogenes*.
- Utför tester av patogener i ett välutrustat laboratorium under överinseende av utbildad personal.
- Följ alltid standardföreskrifter för laboratoriesäkerhet, inklusive användning av lämpliga skyddskläder och skyddsglasögon vid hantering av reagenser och kontaminerade prover.
- Undvik kontakt med innehållet i anrikningsmediet och reagensrören efter amplifiering.
- Kassera anrikade prov enligt gällande branschnormer.

För att minska riskerna som förknippas med korskontaminering under preparering av analysen:

- Bär alltid handskar (för att skydda användaren samt förhindra introduktion av nukleaser).

För att minska riskerna som förknippas med miljöförorening:

- Följ gällande branschnormer för kassering av kontaminerat avfall.

⚠ FÖRSIKTIGHET

- Överskrid inte rekommenderad temperaturinställning för uppvärmningsanordningen.
- Överskrid inte den rekommenderade uppvärmningstiden.
- Använd en lämplig, kalibrerad termometer för att verifiera temperaturen på 3MTM Molekylärt Detektion, Insats för Värmeblock (t.ex. en termometer för delvis nedsänkning eller en digital termoelementstermometer – använd inte en termometer som måste nedsänkas helt). Termometern måste placeras i den avsedda platsen i 3M Molekylärt Detektion, Insats för Värmeblock.

OBSERVERA

För att minska riskerna som förknippas med korskontaminering under preparering av analysen:

- Användning av sterila pipetter med aerosolbarriär (filtrerade) för molekylärbiologiskt bruk rekommenderas.
- Använd en ny pipettspets för varje provöverföring.
- Följ god laboratoriesed vid överföring av provet från anrikningen till lyseringsröret. För att undvika kontaminering av pipetten kan användaren välja att lägga till ett mellanliggande överföringssteg. Exempelvis kan användaren överföra varje anrikat prov till ett sterilt rör.
- Använd en arbetsstation för molekylärbiologi med bakteriedödande lampa när en sådan finns tillgänglig.

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

- Öppna aldrig provrör efter amplifiering.
- Kassera alltid kontaminerade rör genom blötägga dem i en 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning i 1 timme och på avstånd från platsen där analysen förbereds.

Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information och lokala bestämmelser för kassering.

Om du har frågor rörande specifika tillämpningar eller metoder kan du besöka vår webbplats på www.3M.com/foodsafety eller kontakta din lokala 3M-representant eller -leverantör.

GARANTIBEGRÄNSNINGAR/BEGRÄNSAD ERSÄTTNING

MED UNDANTAG AV VAD SOM UTTRYCKLIGEN ANGES I AVSNITT OM GARANTIBEGRÄNSNING FÖR INDIVIDUELLA FÖRPACKNINGAR, FRÅNSÄGER SIG 3M ALLA UTTRYCKLIGA OCH UNDERFÖRSTÅDDA GARANTIER, INKLUSIVE, MEN INTE BEGRÄNSAT TILL, ALLA GARANTIER BETRÄFFANDE SÄLJBARHET ELLER LÄMPLIGHET FÖR ETT VISST ÄNDAMÅL. Om någon produkt från 3M Livsmedelshygien är defekt kommer 3M eller dess auktoriserade leverantör att efter eget gottfinnande ersätta produkten eller återbetala produktens inköpspris. Detta är den enda ersättning som ges. Kunden måste meddela 3M och returnera produkten inom sextio dagar efter upptäckt av misstänkt defekt. Var vänlig ring Kundtjänst (i USA: 1-800-328-1671) eller din officiella representant för 3M Livsmedelshygien för en auktorisation avseende återsändande av produkt.

ANSVARSBEGRÄNSNING

3M KOMMER INTE ATT PÅTA SIG NÅGOT ANSVAR FÖR FÖRLUST ELLER SKADOR, VARE SIG DIREKTA, INDIREKTA, SÄRSKILDA, TILLFÄLLIGA ELLER EFTERFÖLJANDE SKADOR, INKLUSIVE, MEN INTE BEGRÄNSADE TILL, FÖRLORADE VINSTER. Under inga omständigheter ska 3M:s ansvar i något som helst lagrum överskrida inköpspriset för den påstått defekta produkten.

ANVÄNDARANSVAR

Det åligger användarna att bekanta sig med produktinstruktioner och produktinformation. Besök vår webbsida på adressen www.3M.com/foodsafety eller kontakta din lokala 3M-representant eller -leverantör för mer information.

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

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

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

Liksom med alla testmetoder utgör inte resultat som erhållits från användning av någon produkt från 3M Livsmedelshygien en garanti för kvaliteten hos de matriser eller processer som testats.

För att hjälpa kunder att utvärdera metoden för olika livsmedelsmatriser har 3M utvecklat satsen 3M™ Molekylär Detektion Matris Kontroll. Vid behov används Matris Kontroll (MK) för att fastställa om matrisen har förmågan att påverka resultat av 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes*. Testa flera prover som är representativa för matrisen, d.v.s. prover som inhämtats från olika källor, vid varje valideringstillfälle när 3M-metoden används eller när nya eller okända matriser eller matriser som har genomgått råmaterial- eller bearbetningsändringar testas.

En matris kan definieras som en typ av produkt med särskilda egenskaper, så som sammansättning eller bearbetning. Skillnader mellan matriser kan vara så enkla som effekterna som orsakas av skillnader vid bearbetning eller utformning, till exempel rå kontra pastöriserad, färsk kontra torkad, o.s.v.

FÖRVARING OCH AVFALLSHANTERING

Förvara 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* vid 2–8 °C. Förvara inte i frys. Förvara satsen på en mörk plats. Kontrollera att foliepåsen är oskadad när satsen har öppnats. Använd inte produkten om påsen har skadats. Efter att påsen har öppnats ska oanvända reagensrör alltid förvaras i den återförlutningsbara påsen med torkmedlet inuti för att bevara de frystorkade reagensernas stabilitet. Förvara återförlutna påsar vid 2–8 °C i högst 60 dagar.

Använd inte 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* efter utgångsdatumet. Utgångsdatum och partinummer anges på etiketten på lådans utsida. Efter användning kan anrikningsmediet och rören i 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* eventuellt innehålla patogena material. Följ gällande branschnormer för kassering av kontaminerat avfall när provet har slutförts. Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information och lokala bestämmelser för kassering.

BRUKSANVISNING

Följ alla anvisningar noga. Underlåtelse att följa dessa kan leda till felaktiga resultat.

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

PROVANRIKNING

Tabell 2 ger vägledning avseende anrikning av livsmedels- och miljöprover. Det är användarens ansvar att validera alternativa provtagningsprotokoll eller utspädningsfaktorer för att säkerställa att denna testmetod uppfyller användarens kriterier.

Livsmedel

1. Låt anrikningsmediet Halv Fraser buljong (som innehåller järnammونیumcitrat) uppnå laboratoriets omgivningstemperatur.
2. Kombinera aseptiskt anrikningsmediet och provet enligt tabell 2. För alla köttprover och prover som innehåller en stor mängd partiklar rekommenderas att filterpåsar används.
3. Homogenisera noggrant genom blandning, smältning eller blandning för hand i $2 \pm 0,2$ minuter. Inkubera vid 37 ± 1 °C i enlighet med tabell 2.
4. Vid obehandlade mjölkprodukter ska 0,1 ml av det primära anrikningsmediet överföras till 10 ml Fraser buljong. Inkubera vid 37 ± 1 °C i 20–24 timmar.

Miljöprover

Provinsamlingen kan ske med en svamp fuktad med en neutraliserande lösning som inaktiverar desinficeringsmedlens effekt. 3M rekommenderar att biocidfria cellulosasvampar används. Den neutraliserande lösningen kan vara Dey-Engley (D/E) neutraliserande buljong eller Letheen-buljong. Det rekommenderas att området desinficeras efter provtagning.

WARNING: Om du väljer att använda neutraliserande buffert (NB) som innehåller arylsulfonatkomplex som fuktgivande lösning för svampen måste du späda det anrikade miljöprovet till 1:2 (1 del prov till 1 del steril anrikningsbuljong) innan testet utförs för att minska riskerna som förknippas med falskt negativa resultat och som kan leda till utsläpp av kontaminerade produkter.

Den rekommenderade storleken på provtagningsområdet för att bekräfta patogenens frånvaro eller närvaro på ytan är minst 100 cm² (10 x 10 cm eller 4 x 4 tum). Vid provtagning med en svamp, täck hela området i två riktningar (vänster till höger och sedan uppåt och nedåt), eller ta miljöprover enligt ditt gällande provtagningsprotokoll eller enligt riktlinjerna i FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ eller ISO 18593⁽⁶⁾.

1. Låt anrikningsmediet Halv Fraser buljong (som innehåller järnammoniumcitrat) uppnå laboratoriets omgivningstemperatur.
2. Kombinera anrikningsmedlet och provet aseptiskt i enlighet med tabell 2.
3. Homogenisera noggrant genom blandning, smältning eller blandning för hand i $2 \pm 0,2$ minuter. Inkubera vid 37 ± 1 °C i 24–30 timmar.

Tabell 2: Anrikningsprotokoll vid användning av Halv Fraser buljong

Provmatris	Provstorlek	Volym anrikningsbuljong (ml)	Anrikningstemperatur (°C)	Anrikningstid (tim)				
Värmebehandlade, tillagade, saltade kött-, fågel-, skaldjurs- och fiskprodukter	25 g	225	37	24–30				
Värmebehandlade/pastöriserade mjölkprodukter								
Färska livsmedel och grönsaker								
Livsmedel som innehåller flera komponenter								
Miljöprover	1 svamp	100 eller 225	37	24–30				
	1 tygsvabb	10	37	24–30				
Råa kött-, fågel-, skaldjurs-, fiskprodukter	25 g	475	37	28–32				
Provmatris	Primär anrikning (Halv Fraser buljong)				Sekundär anrikning (Fraser buljong)			Volym provanalys ^(a)
	Provstorlek	Volym anrikningsbuljong (ml)	Anrikningstemperatur (°C)	Anrikningstid (tim)	Provstorlek	Anrikningstemperatur (°C)	Anrikningstid (tim)	
Obehandlade mjölkprodukter	25 g	225	37	20–24	Överför 0,1 ml till 10 ml Fraser buljong	37	20–24	10 µL

(a) Provvolum överförd till lyseringslösningssrören. Se steg 4.6 i lyseringsavsnittet.

BEREDNING AV 3M™ MOLEKYLÄR DETEKTION, SNABBLADDNINGSLÅDA

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

BEREDNING AV 3M™ MOLEKYLÄR DETEKTION, INSATS FÖR KYLBLOCK

Placera 3M™ Molekylär Detektion, Insats för kylblock på laboratoriebänken (3M™ Molekylär Detektion, Kylblockslåda används inte). Använd kylblocket vid laboratoriets omgivningstemperatur (20–25 °C).

BEREDNING AV 3M™ MOLEKYLÄR DETEKTION, INSATS FÖR VÄRMEBLOCK

Placera 3M™ Molekylär Detektion, Insats för Värmeblock i en torr blockvärmare. Aktivera blockvärmaren och ställ in temperaturen så att 3M Molekylär Detektion, Insats för Värmeblock tillåts uppnå och bibehålla en temperatur på 100 ± 1 °C.

OBS! Det tar cirka 30 minuter för 3M Molekylär Detektion, Insats för Värmeblock att uppnå rätt temperatur, beroende på vilken värmare som används. Använd en lämplig, kalibrerad termometer (t.ex. en termometer för delvis nedsänkning eller en digital termoelementstermometer – använd inte en termometer som måste nedsänkas helt) placerad på den avsedda platsen och bekräfta att 3M Molekylär Detektion, Insats för Värmeblock håller temperaturen 100 ± 1 °C.

BEREDNING AV 3M™ MOLEKYLÄRT DETEKTIONSINSTRUMENT

1. Starta 3M™ Molekylär detektionsmjukvara och logga in.
2. Aktivera 3M Molekylärt Detektionsinstrument.
3. Skapa eller redigera en datakörning för varje prov. Se bruksanvisningen till 3M Molekylärt Detektionssystem för detaljerad information.

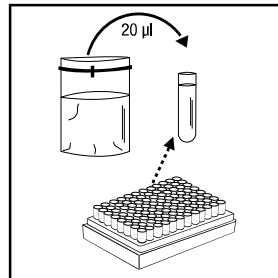
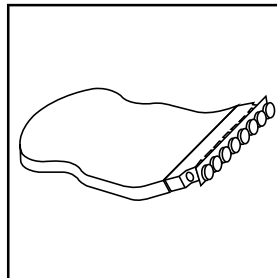
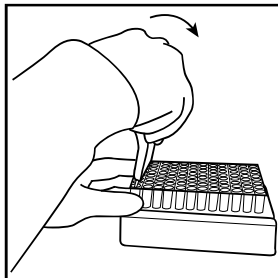
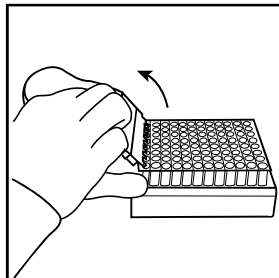
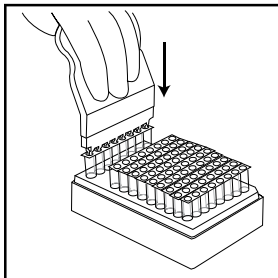
OBS! 3M Molekylärt Detektionsinstrument måste uppnå och bibehålla en temperatur på 60 °C innan 3M Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda med reagensrör förs in. Detta uppvärmningssteg tar cirka 20 minuter och indikeras av en ORANGE lampa på instrumentets statusfält. När instrumentet är redo att starta en körning blir statusfältet GRÖNT.

LYSERING

1. Låt lyseringslösningarna (LL) värmas upp genom att placera stället i rumstemperatur (20–25 °C) över natten (16–18 timmar). Alternativa metoder för att värma LL-rören till rumstemperatur är att ställa LL-rören på laboratoriebänken i minst 2 timmar, inkubera LL-rören vid 37 ± 1 °C i 1 timme eller placera dem i en torr dubbelblockvärmare i 30 sekunder vid 100 °C.
2. Vänd upp och ned på de lockförsedda rören för att blanda dem, högst 4 timmar innan de används.
3. Ta ut anrikningsbuljongen från inkubatorn.
4. Ett LL-rör krävs för varje prov och det negativa kontrollprovet (NK) (sterilt anrikningsmedium).
 - 4.1 Remsorna med LL-rör kan klippas till önskat antal LL-rör. Välj antalet individuella LL-rör eller remсор om 8 rör som behövs. Placera LL-rören i ett tomt ställ.
 - 4.2 För att undvika korskontaminering bör locket på remсорna med LL-rör öppnas ett i taget och en ny pipettspets användas vid varje överföringssteg.
 - 4.3 Överför det anrikade provet till LL-rören enligt nedanstående beskrivning:

Överför **först** varje anrikat prov till ett individuellt LL-rör. Överför **NK sist**.

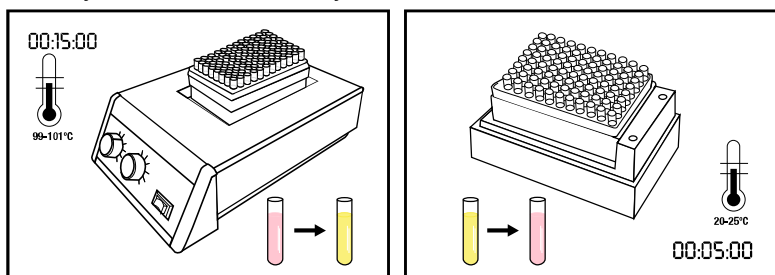
- 4.4 Använd 3M™ Molekylär Detektion, Cap/Decap Redskap – Lysering för att öppna en remsa med LL-rör. Öppna endast en remsa i taget.
- 4.5 Kassera LL-rörens lock – om lysat behöver behållas för omprov ska locken placeras i en ren behållare och sedan sättas tillbaka efter lysering. Se bilaga A för information om behandling av förvarat lysat.
- 4.6 Överför 20 µL prov till ett LL-rör såvida inte annat anges i protokolltabellen.
5. Upprepa steg 4.2 tills varje enskilt prov har tillsatts i ett motsvarande LL-rör i remsan.



6. Upprepa steg 4.1 till 4.6 efter behov för antalet prover som ska testas.
7. När alla prover har överförts ska 20 µL av NK (sterilt anrikningsmedium, t.ex. Halv Fraser buljong) överföras till ett LL-rör. Använd inte vatten som NK.
8. Bekräfta att temperaturen på 3M Molekylär Detektion, Insats för Värmeblock är 100 ± 1 °C.
9. Placera det oövertäckta stället med LL-rör i 3M Molekylär Detektion, Insats för Värmeblock och värm i 15 ± 1 minuter. Under uppvärmning kommer LL-lösningen att ändra färg från rosa (kall) till gul (varm).

Prover som inte har värmebehandlats på korrekt sätt under analysens lyseringssteg bör betraktas som en potentiell biologisk fara och ska INTE föras in i 3M Molekylärt Detektionsinstrument.

10. Ta ut det oövertäckta stället med LL-rör från värmeblocket och låt det svalna i 3M Molekylär Detektion, Insats för kylblock under minst 5 minuter och högst 10 minuter. 3M Molekylär Detektion, Insats för kylblock som används vid omgivningstemperatur och utan Molekylär Detektion, Kylblockslåda ska placeras direkt på laboratoriebanken. När lyseringslösningen svalnar återgår dess färg till rosa.
11. Ta ut stället med LL-rör från 3M Molekylär Detektion, Insats för kylblock.

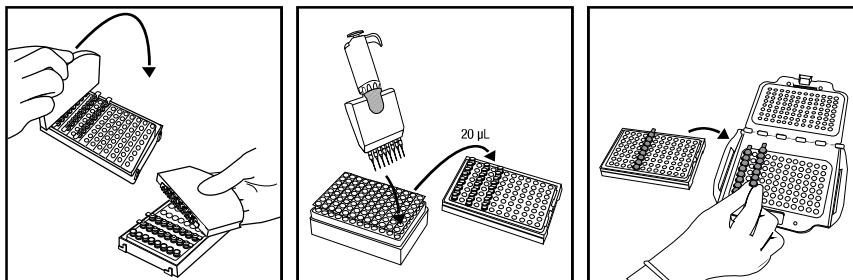


AMPLIFIERING

- Ett reagensrör krävs för varje prov och för NK.
 - 1.1 Remsorna med reagensrör kan klippas till önskat antal rör. Välj antalet individuella reagensrör eller remsor om 8 rör som behövs.
 - 1.2 Placera reagensrören i ett tomt ställ.
 - 1.3 Undvik att röra upp reagenspelletarna i rören botten.
- Välj 1 reagenskontrollrör (RK) och placera det i stället.
- Undvik korskontaminering genom att öppna ett lock på en reagensrörremsa i taget och använd en ny pipettspets vid varje överföringssteg.
- Överför lysatet till reagensrör och RK-rör enligt nedanstående beskrivning:

Överför varje provlysat till individuella reagensrör **först** och överför sedan NK. Hydrera RK-röret **sist**.

- Använd 3M™ Molekylär Detektion, Cap/Decap Redskap – Reagens för att öppna locket på reagensrören. Öppna en remsa med reagensrör i taget. Kassera locket.
 - 5.1 Överför 20 µL provlysat i LL-röret till motsvarande reagensrör. Dispensera vid en vinkel för att undvika att pelletarna rörs upp. Blanda försiktigt genom att pipettera upp och ner 5 gånger.
 - 5.2 Upprepa steg 5.1 tills varje enskilt provlysat har tillsatts i ett motsvarande reagensrör i remsan.
 - 5.3 Täck reagensrören med det medföljande extralocket och använd den rundade sidan på 3M Molekylär Detektion, Cap/Decap Redskap – Reagens för att tillämpa tryck i en fram- och tillbakagående rörelse så att locket sitter ordentligt fast.
 - 5.4 Upprepa steg 5.1 efter behov för antalet prover som ska testas.
 - 5.5 När alla provlysat har överförts upprepar du steg 4.1 för att överföra 20 µL NK-lysat till ett reagensrör.
 - 5.6 Överför **20 µL NK-lysat till ett RK-rör**. Dispensera vid en vinkel för att undvika att pelletarna rörs upp. Blanda försiktigt genom att pipettera upp och ner 5 gånger.
- Ladda de förslutna rören i en ren och dekontaminerad 3M Molekylär Detektion, Snabbbladdningslåda. Stäng och lås locket på 3M Molekylär Detektion, Snabbbladdningslåda.



- Granska och bekräfta den konfigurerade körningen i 3M Molekylär Detektionsmjukvara.
- Klicka på Start-knappen i programmet och välj vilket instrument som ska användas. Det valda instrumentets lock öppnas automatiskt.
- Placera 3M Molekylär Detektion, Snabbbladdningslåda i 3M Molekylär Detektionsinstrument och stäng locket för att starta analysen. Resultaten ges inom 75 minuter. Positiva resultat kan dock detekteras tidigare.
- Ta ut 3M Molekylär Detektion, Snabbbladdningslåda från 3M Molekylär Detektionsinstrument när analysen har slutförts och kassera rören genom att blötlägga dem i en 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning i 1 timme på avstånd från analysberedningsområdet.

OBSERVERA: För att minimera risken för falskt positiva resultat på grund av korskontaminering ska reagensrör med amplifierad DNA aldrig öppnas. Detta innefattar rör med reagenskontroll, reagens och Matris Kontroll. Kassera alltid de förslutna reagensrören genom att blötlägga dem i en 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning i 1 timme på avstånd från analysberedningsområdet.

RESULTAT OCH TOLKNING

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

Presumtivt positiva prover ska bekräftas i enlighet med laboratoriets standardrutiner för detta eller genom att följa lämplig referensmetod för bekräftelse^(1, 2, 3), som börjar med överföring av det primära anrikningssubstratet till det sekundära anrikningssubstratet (om tillämpligt), följt av efterföljande applicering på platta och bekräftelse av isolater med hjälp av lämpliga biokemiska och serologiska metoder.

OBS! Inte ens ett negativt prov ger ett nollvärde, eftersom 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria monocytogenes* och amplifieringsreagenserna i systemet har en relativ ljusenhet (RLU) som "bakgrund".

I de sällsynta fall då ovanlig ljusstrålning förekommer betecknar algoritmen detta som "Inspektera". 3M rekommenderar att användaren upprepar analysen av prover som resulterar i Inspektera. Om resultatet fortsätter att vara Inspektera ska du gå vidare till bekräftelsetestet och använda metoden du föredrar eller den som anges i lokala föreskrifter.

Om du har frågor rörande specifika tillämpningar eller metoder kan du besöka vår webbplats på www.3M.com/foodsafety eller kontakta din lokala 3M-representant eller -leverantör.

REFERENSER:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

Bilaga A. Protokollavbrott: Förvaring och omprovning av värmebehandlade lysater.

1. Om värmebehandlade lysater behöver förvaras ska lyseringsröret tillslutas med ett rent lock (se "Lysering", 4.5).
2. Förvara vid 4 till 8 °C i upp till 72 timmar.
3. Bered ett förvarat prov för amplifiering genom att vända det upp och ned 2–3 gånger för att blanda det.
4. Avlägsna locken från rören.
5. Placera de blandade lysatrören i 3M Molekylär Detektion, Insats för Värmeblock och värm vid 100 ± 1 °C i 5 ± 1 minuter.
6. Ta ut det oövertäckta stället med LL-rör från värmeblocket och låt det svalna i 3M Molekylär Detektion, Insats för kylblock under minst 5 minuter och högst 10 minuter.
7. Fortsätt protokollet från avsnittet "Amplifiering" som beskrivs ovan.

FÖRKLARING AV SYMBOLERNA PÅ PRODUKTMÄRKNINGEN



Försiktighet eller Varning, se produktanvisningarna.



Se produktanvisningarna.



Texten LOT i en ruta representerar partinumret.



Timglasets följande av en månad och ett år som representerar utgångsdatumet.



Förvaringstemperaturgränser.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes*

Produktvejledning

MDA2LM096

PRODUKTBESKRIVELSE OG TILSIGTET BRUG

3M™ Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* benyttes med 3M™ Molekylær Detektions Systemet for hurtig og specifik afsløring af *Listeria*-arter i berigede fødevarer- og miljøprøver.

3M Molekylær Detektions Analyse bruger loop-medieret isothermisk amplifikation til hurtigt at forstærke nukleinsyresekvenser med høj specificitet og følsomhed kombineret med bioluminescens for at afsløre amplifikationen. Formodede positive resultater bliver rapporteret i realtid, mens negative resultater bliver vist, når analysen er gennemført. Formodede positive resultater bør verificeres ved hjælp af den foretrukne metode eller som angivet i de lokale vedtægter^(1, 2, 3).

3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* er beregnet til brug i et laboratoriemiljø af professionelle, der er oplært i laboratorteknikker. 3M har ikke dokumenteret brugen af dette produkt i andre brancher end fødevarer og drikkevarer. For eksempel har 3M ikke dokumenteret dette produkt for test af vand, medicinalvarer, kosmetiske, kliniske eller veterinære prøver. 3M Molekylær Detektions Analyse - 2 *Listeria monocytogenes* er ikke blevet evalueret med alle de mulige testprotokoller eller med alle de mulige bakteriestammer.

Som det gælder for alle analysemetoder, kan kilden til opformeringsmediet påvirke resultaterne. 3M har evalueret 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* med Demi Fraser Bouillon med indhold af ferriammoniumcitrat. En typisk formulering for dette medie følger herunder.

Demi-Fraser Bouillon Base, typisk sammensætning (g/l)

Natriumklorid	20 g
Natriumfosfat, dibasisk, vandfrit*	9,6 g
Kødekstrakt	5,0 g
Pankreatisk fordøjelsesprodukt af kasein	5,0 g
Peptisk fordøjelsesprodukt af animalsk væv	5,0 g
Gærekstrakt	5,0 g
Litiumklorid	3,0 g
Kaliumfosfat, énbasisk	1,35 g
Æskulin	1,0 g
Acriflavin HCl	0,0125 g
Nalidixsyre	0,01 g
* Erstatning: Natriumfosfat, dibasisk, dehydrere	12,0 g

Fraser Bouillon Supplement

(Ingredienser pr 10 ml hætteglas. Et hætteglas tilføjes til en liter basalt medium.)

Ferriammoniumcitrat	0,5 g/10 ml
---------------------	-------------

Slut-pH $7,2 \pm 0,2$ ved 25 °C

3M™ Molekylær Detektions Instrumentet er beregnet til brug sammen med prøver, der har gennemgået varmebehandling under analysens lysin-behandlingsstrin, som er designet til at destruere organismer, der optræder i prøven. Prøver, som ikke er blevet korrekt varmebehandlet under analysens lysin-behandlingsstrin, kan udgøre en væsentlig miljørisiko og bør IKKE sættes ind i 3M Molekylær Detektions Instrumentet.

3M Food Safety er ISO 9001-certificeret (International Organisation for Standardisering) med hensyn til design og produktion.

3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* testkit indeholder 96 tests beskrevet i tabel 1.

Tabel 1. Kittets komponenter

Artikel	Identifikation	Kvantitet	Indholdsfortegnelse	Kommentarer
Lysinopløsning (LS)-reagensglas	Lyserød opløsning i klare reagensglas	96 (12 strimler med 8 reagensglas)	580 µl LS pr reagensglas	På holder og klar til brug
<i>Listeria monocytogenes</i> Reagensglas	Gule reagensglas	96 (12 strimler med 8 reagensglas)	Frysetørret specifik amplifikations- og detektionsblanding	Klar til brug
Ekstra hætter	Gule hætter	96 (12 strimler med 8 hætter)		Klar til brug
Reagens Kontrol (RC)	Gennemsigtige flip-top reagensglas	16 (2 poser med 8 individuelle reagensglas)	Frysetørret kontrol-DNA, amplifikations- og detektionsblanding	Klar til brug
Kvik-start guide		1		

Den negative kontrol, ikke med i kittet, er sterilt opformeringsmedie, f.eks. Demi Fraser Bouillon. Brug ikke vand som en negativ kontrol.



SIKKERHED

Brugeren skal læse, forstå og følge al sikkerhedsinformation i vejledningen til 3M Molekylær Detektions System og 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes*. Gem sikkerhedsvejledningen for fremtidig reference.

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

⚠ **FORSIGTIG:** Indikerer en farlig situation, som kan resultere i mindre eller moderat personskade og/eller beskadigelse af ejendom, hvis den ikke undgås.

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

⚠ ADVARSEL

Benyt ikke 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* til diagnosticering af tilstande på mennesker eller dyr.

3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes*-metoden kan generere *Listeria monocytogenes* på niveauer, der er tilstrækkelige til at medføre dødfødsel og dødsfald hos gravide kvinder og personer med nedsat immunitet, ved eksponering.

Brugeren skal uddanne sit personale i de aktuelle korrekte testteknikker: For eksempel God laboratoriepraksis, ISO 17025⁽⁴⁾ eller ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Følg proceduren, og udfør tests præcist som angivet i produktvejledningen.
- Opbevar 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* som angivet på emballagen og i produktvejledningen.
- Benyt altid 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* inden udløbsdatoen.
- Benyt 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* med fødevare- og miljøprøver, der er valideret internt eller af en tredjepart.
- Benyt kun 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* med overflader, steriliseringsmidler, protokoller og bakteriestammer, der er valideret internt eller af en tredjepart.
- Til en miljøprøve, der indeholder neutraliserende buffer med arysulfonatkompleks, skal du lave en 1:2 fortynding inden testning (1 del prøve i 1 del steril opformeringsbouillon). 3M™ produkter til prøvehåndtering, som omfatter neutraliserende buffer: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB og HS119510NB.

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

- Det anbefales kraftigt, at kvindeligt laboratoriepersonale informeres om risiko for foster under udvikling som følge af infektion af moderen gennem eksponering for *Listeria monocytogenes*.
- Foretag patogentestning i et korrekt udstyret laboratorium under uddannet personales kontrol.
- Følg altid sikkerhedspraksis for et standardlaboratorium inklusive brug af passende beskyttelsesudstyr og beskyttelsesbriller under håndtering af reagenser og kontaminerede prøver.
- Undgå kontakt med indholdet af opformeringsmediet og reagensglas efter amplifikation.
- Bortskaf de opformede prøver i overensstemmelse med gældende industristandarder.

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

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

For at reducere risiciene forbundet med miljøforurening:

- Følg gældende industristandarder for bortskaffelse af kontamineret affald.

⚠ FORSIGTIG

- Overskrid ikke den anbefalede temperaturindstilling på varmeelementet.
- Overskrid ikke den anbefalede opvarmningstid.
- Brug et passende, kalibreret termometer til at verificere temperaturen for 3M™ Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg (f.eks. et termometer til delvis nedsækning eller et digitalt termoelementtermometer, ikke et termometer til hel nedsækning.) Termometeret skal anbringes på det dertil indrettede sted i 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlægget.

BEMÆRK

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

- Der anbefales brug af sterile, aerosol-barriere (filtrede), molekylære biologiske pipettespidser.
- Brug en ny pipettespid til hver prøveoverførsel.
- Anvend god laboratoriepraksis til overførsel af prøven fra opformeringsglasset til lysin-reagensglasset. For at undgå kontaminering af pipetterne kan brugeren vælge at tilføje et mellemliggende overførselstrin. For eksempel kan brugeren overføre hver enkel opformet prøve til et sterilt reagensglas.
- Anvend om muligt en molekylærbiologisk arbejdsstation, der inkluderer en bakteriedræbende lampe.

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

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

Se sikkerhedsdatabladet for yderligere oplysninger og lokale vedtægter for bortskaffelse.

Hvis du har spørgsmål til specifikke applikationer eller procedurer, bedes du besøge vores websted på www.3M.com/foodsafety eller kontakte din lokale 3M-repræsentant eller distributør.



BEGRÆNSNING AF GARANTIER / BEGRÆNSET RETSMIDDEL

BORTSET FRA HVAD DER ER UDTRYKKELIGT ANFØRT I DEN BEGRÆNSEDE GARANTI TIL INDIVIDUEL PRODUKTEMBALLAGE, FRASIGER 3M SIG ALLE UDTRYKKELIGE OG UNDERFORSTÅEDE GARANTIER INDBEFATTET MEN IKKE BEGRÆNSET TIL ENHVER SALGBARHEDSGARANTI ELLER EGNETHED TIL EN BESTEMT ANVENDELSE. Hvis et 3M Food Safety-produkt er behæftet med fejl eller mangler, vil 3M eller en af dennes autoriserede distributører efter dennes eget skøn udskifte eller refundere produktets købspris. Dette er den eneste til rådighed værende afhjælpning. Du skal straks, inden for 60 dage efter at have opdaget enhver formodet fejl ved et produkt, meddele dette og returnere produktet til 3M. Kontakt venligst kundeservice (1-800-328-1671 i USA) eller den autoriserede 3M fødevarer sikkerhedskonsulent for at modtage en produktreturneringsautorisation.

BEGRÆNSNING AF 3MS ANSVAR

3M SKAL IKKE HOLDES ANSVARLIG FOR EVT. TAB ELLER SKADER, HVAD END DE ER OPSTÅET DIREKTE, INDIREKTE, UNDER SÆRLIGE OMSTÆNDIGHEDER ELLER TILFÆLDIGE SKADER INDBEFATTET MEN IKKE BEGRÆNSET TIL MISTET FORTJENESTE. Under ingen omstændigheder skal 3M's erstatningsansvar kunne overstige købsprisen af produktet der efter sigende er behæftet med fejl.

BRUGERANSVAR

Brugerne er ansvarlige for at gøre sig bekendt med produktvejledninger og oplysninger. Besøg vores hjemmeside på www.3M.com/foodsafety, eller kontakt din lokale 3M repræsentant eller distributør for yderligere oplysninger.

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

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

Det er også brugerens eget ansvar at fastsætte, at testmetoderne og resultaterne lever op til kundernes og leverandørernes krav.

Som med alle andre testmetoder gælder det, at de resultater, der opnås med dette 3M fødevarerprodukt udstyr, ikke giver garanti for kvaliteten af detestede matricer og processer.

For at hjælpe kunder med at evaluere metoden til flere forskellige fødevarer matricer har 3M udviklet 3M™ Molekylær Detektions Matrix Kontrol-kittet. Hvis det er nødvendigt, kan Matrix Kontrol (MC) bruges til at bestemme, om matricen har evnen til påvirke 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes*-resultaterne. Test flere forskellige repræsentative prøver fra matricen, dvs. prøver hentet fra forskellige kilder, fra enhver valideringsperiode under anvendelse af 3M-metoden eller under testning af nye eller ukendte matricer eller matricer, der har gennemgået ændringer i råmaterialet eller i processen.

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

OPBEVARING OG BORTSKAFFELSE

Opbevar 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* ved temp. mellem 2-8 °C. Undlad at fryse. Opbevar kittet på et mørkt sted. Efter åbning skal det kontrolleres, at folieposen er intakt. Hvis posen er beskadiget, må produktet ikke anvendes. Efter åbning bør ubenyttede reagensglas altid opbevares i den genlukkelige pose med tørremidlet indeni for at opretholde de frysetørrede reagensers stabilitet. Opbevar de forseglede poser ved temperaturer mellem 2-8 °C i højst 60 dage.

Benyt ikke 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* efter udløbsdatoen. Udløbsdato og lotnummer findes på æskens udvendige mærkat. Efter brug kan opformeringsmediet og 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* reagensglassene potentielt indeholde patogene materialer. Når testning er fuldført, bedes du følge nuværende industristandarder for bortskaffelse af kontamineret affald. Se sikkerhedsdatabladet for yderligere oplysninger og lokale vedtægter for bortskaffelse.

BRUGSVEJLEDNING

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

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

PRØVEOPFORMERING

Tabel 2 viser vejledning til berigelse af fødevarer og miljøprøver. Det er brugerens ansvar at evaluere alternative prøveprotokoller eller blandingsforhold for at sikre, at denne analysemetode imødekommer brugerens kriterier.

Fødevarer

1. Lad Demi Fraser Bouillon opformeringsmediet (inkl. ferriammoniumcitrat) stabilisere sig til laboratorietemperatur.
2. Ved brug af aseptisk teknik kombineres opformeringsmediet og prøven ifølge Tabel 2. Til alle kød- og højpartikelprøver anbefales brug af filterposer.
3. Homogeniser grundigt med en blender, eller med håndkraft i $2 \pm 0,2$ minutter. Inkubér ved 37 ± 1 °C i henhold til tabel 2.
4. Til rå mejeriprodukter, overføres 0,1 ml af den primære opformning til 10 ml af Fraser Bouillon. Inkubér ved 37 ± 1 °C i 20-24 timer.



Miljøprøver

Prøveopsamlingsredskabet kan være en svamp dyppet i en neutraliserende opløsning for at inaktivere påvirkningen af desinfektionsmidlerne. 3M anbefaler brugen af en biocidfri cellulosesvamp. Neutraliserende opløsningsmiddel kan være Dey-Engley (D/E) Neutraliserende Bouillon eller Lethen bouillon. Det anbefales at desinficere området efter prøvetagningen.

ADVARSEL: Hvis du vælger at bruge en neutral buffer (NB), der indeholder aarylsulfonatkompleks, som den hydrerende opløsning på svampen, så skal du udføre et 1:2 blandingsforhold (en del prøve til en del steril opformeringsbouillon) af den opformede miljøprøve inden testning for at reducere risici i forbindelse med et falsk-negativt resultat, der kan føre til frigørelsen af kontaminerede produkter.

Den minimalt anbefalede størrelse af prøvearealet til bestemmelse af tilstedeværelsen eller fraværet af patogenet på overfladen er mindst 100 cm² (10 cm x 10 cm eller 4"x4"). Når du foretager prøvetagning med en svamp, skal du teste hele arealet i to retninger (fra venstre mod højre og derefter op og ned) eller indsamle miljøprøver iht. din gældende prøvetagningsprotokol eller iht. FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ eller ISO 18593⁽⁶⁾-retningslinjerne.

1. Lad Demi Fraser Bouillon-opformeringsmediet (inkl. ferriammoniumcitrat) stabilisere sig til laboratorietemperatur.
2. Ved brug af aseptisk teknik kombineres opformningsmediet og prøven i henhold til tabel 2.
3. Homogeniser grundigt med en blender, eller med håndkraft i $2 \pm 0,2$ minutter. Inkubér ved 37 ± 1 °C i 24-30 timer.

Tabel 2: Opformeringsprotokoller ved brug af Demi Fraser Bouillon Opformering

Prøvematrice	Prøvestørrelse	Opformeringsbouillon-volumen (ml)	Opformeringsstemperatur (°C)	Opformeringsringtid (t)				
Varmebehandlet, kogt, behandlet kød, fjerkræ, fiskeretter og fisk Varmebehandlet / pasteuriserede mælkeprodukter Afgroder og grøntsager Multi-komponent-madvarer	25 g	225	37	24-30				
Miljøprøver	1 svamp	100 eller 225	37	24-30				
	1 vatpind	10	37	24-30				
Råt kød, fjerkræ, fiskeretter, fisk	25 g	475	37	28-32				
Prøvematrice	Primær Opformering (Demi Fraser Bouillon)				Sekundær Opformering (Fraser Bouillon)			Prøveanalysevolumen ^(a)
	Prøvestørrelse	Opformeringsbouillon-volumen (ml)	Opformeringsstemperatur (°C)	Opformeringsringtid (t)	Prøvestørrelse	Opformeringsstemperatur (°C)	Opformeringsringtid (t)	
Rå mælkeprodukter	25 g	225	37	20-24	Overfør 0,1 ml til 10 ml Fraser Bouillon	37	20-24	10 µL

(a) Prøvevolumen overført til reagensglas med lysin-opløsning. Se trin 4.6 i afsnittet Lysin-behandling.

FORBEREDELSE AF 3M™ MOLEKYLÆR DETEKTIONS BAKKE TIL HURTIG PÅFYLDNING

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

KLARGØRELSE AF 3M™ MOLEKYLÆR DETEKTIONS KØLEBLOK INDLÆGGET

Anbring 3M™ Molekylær Detektions Køleblok direkte på arbejdsbordet; (3M™ Molekylær Detektions Køleblok Bakken bruges ikke). Brug køleblokken ved laboratorietemperatur (20-25 °C).

KLARGØRELSE AF 3M™ MOLEKYLÆR DETEKTIONS VARMEBLOK INDLÆGGET

Anbring 3M™ Molekylær Detektions Varmeblok Indlægget på en tør varmeenhed. Tænd for den tørre varmeenhed, og indstil temperaturen, så 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlægget kan nå og opretholde en temperatur på 100 ± 1 °C.

BEMÆRK: Afhængigt af varmeenheden skal man påregne ca. 30 minutter, før 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlægget opnår temperaturen. Ved hjælp af et passende, kalibreret termometer (f.eks. et termometer til delvis nedsenkning eller et digitalt termoelementtermometer) anbragt på det dertil indrettede sted, skal man verificere, at 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlægget er på 100 ± 1 °C.

KLARGØRELSE AF 3M™ MOLEKYLÆR DETEKTIONS INSTRUMENTET

1. Start 3M™ Molekylær Detektions Softwaren og log på.
2. Tænd for 3M Molekylær Detektions Instrumentet.
3. Opret eller redigér en kørsel med data for hver prøve. Se brugsanvisningen til 3M Molekylær Detektions Systemet for flere oplysninger.

BEMÆRK: 3M Molekylær Detektions Instrumentet skal opnå og opretholde en temperatur på 60 °C, inden man indsætter reagensglas i 3M Molekylær Detektions Bakken til hurtig påfyldning. Dette opvarmningstrin varer ca. 20 minutter og bliver angivet med et ORANGE lys på instrumentets statussøjle. Når instrumentet er klart til en kørsel, lyser statussøjlen GRØNT.

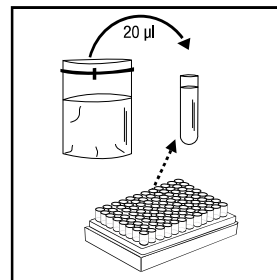
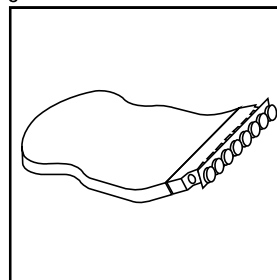
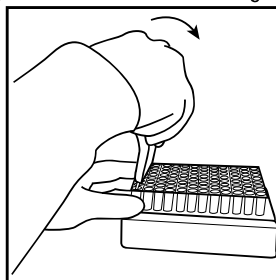
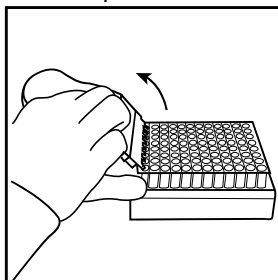
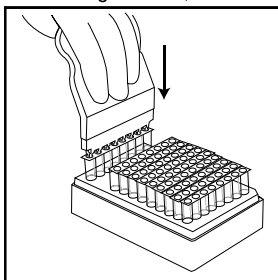
LYSIN-BEHANDLING

1. Lad reagensglassene til lysin-behandlingen (LS) varme op ved at indstille stativet på stuetemperatur (20-25 °C) hen over natten (16-18 timer). Alternativer til at stabilisere LS-reagensglassene til stuetemperatur er at sætte dem på arbejdsbordet i mindst to timer, inkubere dem i en 37 ± 1 °C inkubator i en time eller stille dem i en tør dobbelt varmekub i 30 sekunder på 100 °C.
2. Vend de lukkede reagensglas på hovedet op til 4 timer før brug.
3. Fjern berigelsesboullonen fra inkubatoren.
4. Et LS-reagensglas er krævet for hver prøve og den negative kontrol (NC) (sterilt opformeringsmedie)-prøve.
 - 4.1 LS-reagensglasstrimler kan tilpasses til det ønskede antal LS-reagensglas. Vælg antallet af individuelle LS-reagensglas eller 8-reagensglas strimler efter behov. Anbring LS-reagensglassene i en tom glasholder.
 - 4.2 Åbn én LS-reagensglasstrimmel ad gangen for at undgå krydskontaminering, og brug en ny pipette til hvert overførselstrin.
 - 4.3 Overfør opformeret prøve til LS-reagensglas som beskrevet nedenfor:

Overfør hver opformeret prøve til individuelle LS-reagensglas **først**. Overfør NC **til sidst**.

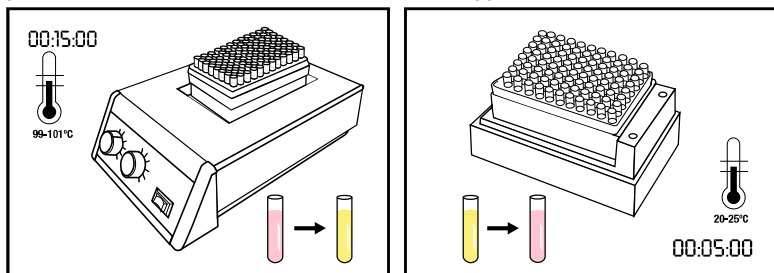
- 4.4 Brug 3M™ Molekylær Detektions Værktøj til Cap/Decap (lukning/åbning) – Lysin-behandling til at åbne én LS-reagensglasstrimmel ad gangen.
- 4.5 Smid LS-reagensglassets låg væk – hvis lysat vil blive bevaret for gentestning, så placér lågene inden i en ren beholder til genpåsætning efter lysin-behandlingen. For bevaring af lysat se bilag A.
- 4.6 Overfør 20 µL af prøven ind i et LS-reagensglas medmindre andet er indikeret i protokoltabellen.

5. Gentag trin 4.2, indtil hver individuel prøve er blevet tilføjet til et tilsvarende LS-reagensglas i strimlen.



6. Gentag trin 4.1 til 4.6 efter behov for antallet af prøver, der skal testes.
7. Når alle prøver er blevet overført, så overfør 20 µL af NC (sterilt opformeringsmedie, f.eks. Demi Fraser Bouillon) ind i et LS-reagensglas. Brug ikke vand som en NC.
8. Kontrollér, at 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlægget har en temperatur på 100 ± 1 °C.

9. Anbring glasholderen med LS-reagensglas i 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlægget, og opvarm i 15 ± 1 minutter. I løbet af opvarmningen vil LS-opløsningen skifte fra pink (kølig) til gul (varm).
Prøver, som ikke er blevet korrekt varmebehandlet under analysens lysin-behandlingstrin, kan udgøre en væsentlig miljørisiko og bør IKKE sættes ind i 3M Molekylær Detektions Instrumentet.
10. Fjern det udekledede stativ med LS-reagensglas fra varmekblokken og lad det køle i 3M Molekylær Detektions Køleblok Indlæg i mindst 5 minutter og i maksimalt 10 minutter. 3M Molekylær Detektions Køleblok Indlæg brugt ved stuetemperatur uden Molekylær Detektions Køleblok Bakke bør stå direkte på arbejdsbordet. Når det er koldt, vil lysin-opløsningen skifte til en pink farve.
11. Fjern stativet med LS-reagensglas fra 3M Molekylær Detektions Køleblok Indlægget.

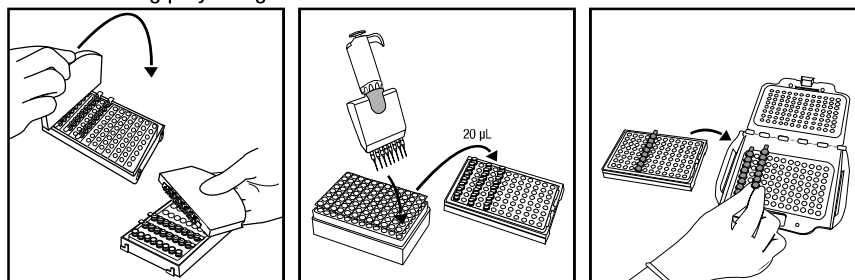


AMPLIFIKATION

1. Der skal bruges ét reagensglas til hver prøve og NC.
 - 1.1 Reagensglasstrimler kan tilskræres, så de passer til antallet af reagensglas. Vælg antallet af individuelle reagensglas eller 8-reagensglasstrimler efter behov.
 - 1.2 Anbring reagensglassene i en tom glasholder.
 - 1.3 Undgå at forstyrre reagenskuglerne på bunden af reagensglassene.
2. Vælg ét Reagens Kontrol (RC)-reagensglas, og anbring det i holderen.
3. For at undgå krydskontaminering så åbn én reagensglasstrimmel ad gangen, og brug en ny pipettespids til hvert overførselstrin.
4. Overfør lysat til reagensglas og RC-reagensglas som beskrevet nedenfor:

Overfør hver lysatprøve til individuelle reagensglas **først** efterfulgt af NC'et. Hydrér RC-reagensglasset **til sidst**.

5. Anvend 3M™ Molekylær Detektions Værktøj til Cap/Decap (lukning/åbning) - Reagens til at åbne reagensglassene –ét reagensglas ad gangen. Bortskaf hæften.
 - 5.1 Overfør 20 µL af prøve-lysat i et LS-reagensglas ind i det korresponderende reagensglas. Dosér med en skrå hældning for at undgå at forstyrre kuglerne. Bland forsigtigt ved at pipettere op og ned 5 gange.
 - 5.2 Gentag trin 5.1, indtil hver individuel prøve er blevet tilføjet til respektive reagensglas i strimlen.
 - 5.3 Tildæk reagensglassene med de medfølgende ekstrahætter, og benyt den afrundede side af 3M Molekylær Detektions Værktøj til Cap/Decap (lukning/åbning) - Reagens for at påføre tryk i en frem- og tilbagegående bevægelse, der sikrer, at hæften er omhyggeligt fastspændt.
 - 5.4 Gentag trin 5.1 efter behov for antallet af prøver, der skal testes.
 - 5.5 Når alle prøvelysater er overført, gentag 4.1 for at overføre 20 µL af NC lysat til et reagensglas.
 - 5.6 Overfør **20 µL af NC lysat til et RC-reagensglas**. Dosér med en skrå hældning for at undgå at forstyrre kuglerne. Bland forsigtigt ved at pipettere op og ned 5 gange.
6. Sæt reagensglassene med låg påsat i en ren og dekontamineret 3M Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning. Luk og lås låget til 3M Molekylær Detektions Bakken til hurtig påfyldning.



7. Gennemgå og bekræft den konfigurerede kørsel i 3M Molekylær Detektions Softwaren.
8. Klik på startknappen i softwaren, og vælg det instrument, du vil bruge. Det valgte instruments låg åbnes automatisk.
9. Anbring 3M Molekylær Detektions Bakken til hurtig påfyldning i 3M Molekylær Detektions Instrumentet, og luk låget for at påbegynde analysen. Resultaterne fremkommer inden for 75 minutter, skønt positive resultater kan fremkomme hurtigere.
10. Når analysen er færdig, så fjern 3M Molekylær Detektions Bakken til hurtig påfyldning fra 3M Molekylær Detektions Instrumentet, og smid reagensglassene væk ved at lade dem ligge i blød i en 1-5 % (v:v i vand) husholdningsklorinopløsning i en time og på god afstand af analyseklargørelsesområdet.

BEMÆRK: For at minimere risikoen for falsk-positiver pga. krydskontaminering må du aldrig åbne reagensglas, der indeholder forstærket DNA. Dette inkluderer Reagens Kontrol, Reagent og Matrix Kontrol reagensglas. Læg altid forseglede reagensglas i blød i en 1-5 % (v:v i vand) husholdningsklorinopløsning i en time og på god afstand af analyseklargørelsesområdet.

RESULTATER OG FORTOLKNING

En algoritme fortolker lyseffektkurven, der er et resultat af detektion af nukleinsyre-amplifikation. Resultaterne bliver automatisk analyserede af softwaren og bliver farvekodede baseret på resultatet. Et positivt eller negativt resultat bliver fastslået ved at analysere et antal unikke kurveparametre. Formodede positive resultater bliver rapporterede i realtid, mens negative resultater og inspektionsresultater bliver vist, efter kørslen er gennemført.

Formodede positive prøver bør bekræftes iht. laboratoriets standardbetjeningsprocedurer eller ved at følge den passende referencemetode for bekræftelse^(1,2,3), begyndende med overførsel fra de primære til sekundære opformeringsbouillon (hvis relevant) efterfulgt af udsåning og bekræftelse af isolater ved brug af passende biokemiske og serologiske metoder.

BEMÆRK: Selv en negativ prøve vil ikke give en nulaflæsning, da systemet og 3M Molekylær Analyse 2 - *Listeria monocytogenes* amplifikationsreagenser har en "baggrundsmæssig" relativ lysenhed (RLU).

I sjældne tilfælde af en usædvanlig lyseffekt vil algoritmemærkaterne kategorisere dette som "inspektion." 3M anbefaler brugeren at gentage analysen for alle inspektionsprøver. Hvis resultatet fortsætter med at være markeret for inspektion, så fortsæt til bekræftelsestest ved brug af din foretrukne metode eller som specificeret i lokale regulativer.

Hvis du har spørgsmål til specifikke applikationer eller procedurer, bedes du besøge vores websted på www.3M.com/foodsafety eller kontakte din lokale 3M-repræsentant eller -distributør.

LITTERATURHENVISNINGER:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

Bilag A. Protokolfbrydelse: Opbevaring og gentestning af varmebehandlede lysater

1. Sæt låget på lysis-behandlingsreagensglasset med et rent låg for at opbevare et varmebehandlet lysat (se "Lysis-behandling" 4,5).
2. Opbevar ved 4 til 8 °C i op til 72 timer.
3. Forbered en opbevaret prøve til amplifikation ved at vende den på hovedet 2-3 gange for at blande.
4. Tag lågene af reagensglassene.
5. Placer de blandede lysat-reagensglas på 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlægget og varm op til 100 ± 1 °C i 5 ± 1 minutter.
6. Fjern det udekkede stativ med LS-reagensglas fra varmeblokken og lad det køle i 3M Molekylær Detektions Køleblok Indlæg i mindst 5 minutter og i maksimalt 10 minutter.
7. Fortsæt protokollen på "Amplifikation"-sektionen som angivet ovenfor.

SYMBOLFORKLARING TIL PRODUKTETS MÆRKATER



Forsigtig eller Advarsel, se produktvejledningen.



Se produktvejledningen.



Varepartiet i en kasse repræsenterer varepartinummeret.



Timeglasset efterfølges af måned og år, der angiver udløbsdatoen.



Begrænsninger for opbevaringstemperatur.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Produktveiledning

Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes*

MDA2LM096

PRODUKTBESKRIVELSE OG BRUKSOMRÅDE

3M™ Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* brukes med 3M™ System for molekylær deteksjon for rask og spesifikk påvisning av *Listeria*-arter i oppformerte mat- og miljøprøver.

3M Molekylær deteksjonstester bruker sløyfe-mediert isotermisk amplifikasjon for hurtig amplifikasjon av nukleinsyresekvensene med høy spesifisitet og sensitivitet, kombinert med bioluminescens for å registrere amplifikasjonen. Antatte positive testresultater rapporteres i sanntid, mens negative resultater vises etter at testen er fullført. Antatte positive resultater skal bekreftes ved hjelp av din foretrukne metode, eller som spesifisert av lokale forskrifter^(1, 2, 3).

3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* er ment til bruk i et laboratoriemiljø av fagpersoner med opplæring i laboratorieteknikker. 3M har ikke godkjent dette produktet for bruk i andre næringsindustrier enn mat eller drikke. 3M har for eksempel ikke godkjent dette produktet for testing av vann-, farmasøytiske-, kosmetiske-, kliniske eller veterinærprøver. 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* er ikke evaluert med alle mulige testprotokoller eller alle mulige bakteriestammer.

Som med alle testmetoder, kan kilden til oppformeringsmedium påvirke resultatene. 3M har evaluert 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* med Demi-Fraser-buljong med jern(III)ammoniumsitratt. En typisk formulering av dette mediet følger nedenfor.

Demi-Fraser-buljong typisk formel (g/l)

Natriumklorid	20 g
Natriumfosfat, dibasisk, vannfri*	9,6 g
Kjøttekstrakt	5,0 g
Pankreatisk fordøyd kasein	5,0 g
Peptisk fordøyd dyrevev	5,0 g
Gjærekstrakt	5,0 g
Litiumklorid	3,0 g
Monokaliumfosfat	1,35 g
Esculin	1,0 g
Acriflavin HCl	0,0125 g
Nalidiksinsyre	0,01 g
* Substitutt: Natriumfosfat, dibasisk, dihydrat	12,0 g

Supplement av Fraser-buljong

(Ingredienser per 10 ml ampulle. Én ampulle tilføres til én liter basalt medium.)

Jern(III)ammoniumsitratt	0,5 g / 10 ml
--------------------------	---------------

Endelig pH 7,2 ± 0,2 ved 25 °C

3M™ Instrument for molekylær deteksjon er ment til bruk med prøver som har gjennomgått varmebehandling i testens lyseringstrinn, som er konstruert for å ødelegge organismer som finnes i prøven. Prøver som ikke har blitt korrekt varmebehandlet under testlyseringstrinnet kan vurderes som en potensiell biologisk fare og skal IKKE settes inn i 3M Instrument for molekylær deteksjon.

3M Food Safety er ISO (International Organization for Standardization) 9001-sertifisert for design og produksjon.

Testsettet 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* inneholder 96 tester, beskrevet i tabell 1.

Tabell 1. Settkomponenter

Objekt	Identifikasjon	Mengde	Innhold	Kommentarer
Lyseringsoppløsningsrør (LS)	Rosa oppløsning i gjennomsiktige rør	96 (12 strimler med 8 rør)	580 µl LS per rør	Stativplassert og klar for bruk
<i>Listeria monocytogenes</i> reagensrør	Gule rør	96 (12 strimler med 8 rør)	Lyofilisert spesifikk amplifikasjon og deteksjonsblanding	Klar til bruk
Ekstra lokk	Gule lokk	96 (12 strimler med 8 lokk)		Klar til bruk
Reagenskontroll (RC)	Gjennomsiktige rør med vippelekk	16 (2 poser med 8 individuelle rør)	Lyofilisert DNA-kontroll, amplifikasjon og deteksjonsblanding	Klar til bruk
Oppstartsveiledning		1		

Den negative kontrollen, som ikke medfølger i settet, er et sterilt oppformeringsmedium, for eksempel Demi-Fraser-buljong. Ikke bruk vann som negativ kontroll.



SIKKERHET

Brukeren må lese, forstå og følge all informasjon om sikkerhet i instruksjonene for 3M System for molekylær deteksjon og 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes*. Behold sikkerhetsveiledningen for fremtidig referanse.

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

⚠ **FORSIKTIG:** Indikerer en farlig situasjon som, om den ikke unngås, kan resultere i mindre eller moderat personskade og/eller materielle skader.

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

⚠ ADVARSEL

Ikke bruk 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* i diagnostisering av tilstander hos mennesker eller dyr.

Metoden 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* kan utvikle *Listeria monocytogenes* til nivåer som er store nok til å forårsake dødfødsler og dødsfall hos gravide kvinner og dem med immundefekter, hvis de blir utsatt.

Brukeren må sørge for at personalet får tilstrekkelig opplæring i korrekte testteknikker: for eksempel, God laboratoriepraksis, ISO 17025⁽⁴⁾, eller ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Følg protokollen og utfør testene akkurat slik de beskrives i produktveiledningen.
- Oppbevar 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* slik som beskrevet på pakningen og i produktveiledningen.
- Bruk alltid 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* innen utløpsdatoen.
- Bruk 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* med mat- og miljøprøver som har blitt godkjent internt eller av en tredjepart.
- Bruk kun 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* til overflater, rensemidler, protokoller og bakteriestammer som har blitt godkjent internt eller av en tredjepart.
- For en miljøprøve som inneholder nøytraliserende buffer med arylsulfonat-kompleks, utfør en 1:2 fortynning før testing (1 del prøve i 1 del steril oppformeringsbuljong). 3M™ prøvehåndteringsprodukter som inkluderer nøytraliserende buffer: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XLSL10NB, HS10NB og HS119510NB.

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

- Det anbefales på det sterkeste at kvinnelige laboratorieansatte blir informerte om risikoen for at et foster under utvikling kan utvikle en infeksjon, hvis mor utsettes for *Listeria monocytogenes*.
- Utfør patogentesting i et godt utstyrt laboratorium under kontroll av utdannet personell.
- Følg alltid standard praksis for laboratoriesikkerhet, inkludert bruk av egnet personlig verneutstyr og øyevern ved håndtering av reagensrør og kontaminerte prøver.
- Unngå kontakt med innholdet i oppformeringsmediet og reagensrør etter amplifisering.
- Avhend oppformerte prøver i henhold til gjeldende industristandarder.

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

- Ha alltid på hansker (for å beskytte brukeren og forhindre introduksjon av nukleaser).

For å redusere risikoen forbundet med miljøforurensning:

- Følg gjeldende industristandarder for avhending av kontaminert avfall.

⚠ FORSIKTIG

- Ikke overstig anbefalt temperaturinnstilling på varmeblokken.
- Ikke overstig anbefalt oppvarmingstid.
- Bruk et passende, kalibrert termometer til å kontrollere temperaturen på 3M™ Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon (for eksempel delvis nedsenket termometer eller digitalt termoelement termometer, ikke et helt nedsenket termometer). Termometeret må plasseres på det tildelte stedet på 3M Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon.

MERKNAD

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

- Bruk av pipettespisser med steril, spraybasert barriere (filtret), av molekylærbiologi-karakter anbefales.
- Bruk en ny pipettespiss for hver prøveoverføring.
- Bruk gode laboratoriepraksiser for å overføre prøven fra oppformeringen til lyseringsrøret. For å unngå kontaminasjon av pipetter kan brukeren velge å legge til et mellomtrinn under overføring. Brukeren kan for eksempel overføre hver oppformerte prøve til et sterilt rør.
- Dersom tilgjengelig, bruk en arbeidsstasjon for molekylær biologi som har en bakteriedrepende lampe.

For å redusere risiko forbundet med falskt positivt resultat:

- Aldri åpne rørene etter amplifisering.
- Avhend alltid de kontaminerte rørene ved å bløtlegge dem i en 1–5 % (volumandel i vann) oppløsning av husholdningsblekemiddel i én time og borte fra testens forberedelsesområde.

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

Hvis du har spørsmål om spesifikke bruksområder eller prosedyrer, besøk vår nettside på www.3M.com/foodsafety eller ta kontakt med en lokal 3M-representant eller forhandler.

BEGRENSNING AV GARANTIER / BEGRENSEDE RETTIGHETER

MED MINDRE DET ER UTRYKKELIG SKREVET I EN BEGRENSET GARANTI PÅ EN PRODUKTPAKNING, FRASKRIVER 3M SEG ALLE DIREKTE OG INDIREKTE GARANTIER, INKLUDERT MEN IKKE BEGRENSET TIL, ENHVER GARANTI OM SALGBARHET ELLER ANVENDELSE TIL ET BESTEMT FORMÅL. Hvis noe 3M Food Safety-produkt er defekt, vil 3M og dets autoriserte distributører erstatte eller refundere produktets kjøpesum etter eget skjønn. Dette er dine ubetingede rettigheter. Du må straks varsle 3M innen seksti dager fra oppdagelsen av enhver mulig feil i et produkt og returnere dette produktet til 3M. Ring kundeservice (06384 i Norge) eller ta kontakt med din offisielle 3M Food Safety-representant for en "returgodsavtale".

BEGRENSNING AV 3MS ANSVAR

3M VIL IKKE VÆRE ANSVARLIG FOR NOE TAP ELLER SKADE, DIREKTE ELLER INDIREKTE, SPESIELL, TILFELDIG ELLER FØLGESKADE, INKLUDERT MED IKKE BEGRENSET TIL TAPT FORTJENESTE. Ikke under noen omstendighet skal 3Ms ansvar, under noen juridisk teori, overstige kjøpesummen for et produkt som antas å være defekt.

BRUKERANSVAR

Brukere er ansvarlige for å sette seg inn i instruksjoner og informasjon om produktet. Besøk nettsiden vår www.3M.com/foodsafety eller kontakt din lokale representant eller distributør i 3M for mer informasjon.

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

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

Det er også brukerens ansvar å fastslå at alle prøvemethoder og resultater tilfredsstiller kundens og forhandlerens forlangende.

Som med alle testmetoder, utgjør ikke resultatene som oppnås ved bruk av noe 3M Food Safety-produkt noen garanti om kvaliteten av matrisene eller prosessene som testes.

For å hjelpe kundene med å evaluere metoder for forskjellige matmatriser, har 3M utviklet et sett med 3M™ Matrisekontroll for molekylær deteksjon. Ved behov, bruk matrisekontrollen (MC) til å bestemme om matrisen har evnen til å påvirke resultatene for 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes*. Test flere prøver som representerer matrisen, dvs. prøver innhentet fra forskjellige opphav, i løpet av en valideringsperiode når 3M-metoden brukes, eller ved testing av nye ukjente matriser eller matriser som har gjennomgått endringer i råvaremateriale eller prosess.

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

OPPBEVARING OG AVHENDING

Oppbevar 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* ved 2-8 °C. Må ikke fryses. Hold settet borte fra lys ved lagring. Etter at settet er åpnet, undersøk at folieposen er uskadet. Må ikke brukes dersom posen er skadet. Etter åpning skal ubrukte reagensrør alltid oppbevares i den gjenlukkbare posen med tørkemiddelet inni, for å opprettholde stabiliteten til de lyofiliserte reagensene. Lagre forseglede poser ved 2-8 °C i maksimalt 60 dager.

Ikke bruk 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* etter utløpsdatoen. Utløpsdato og partinummer er angitt på etiketten på utsiden av esken. Etter bruk kan rørene med det oppformerte middelet og 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes*-rørene potensielt inneholde patogen materiale. Når testingen er fullført, følger du gjeldende industristandarder for avhending av kontaminert avfall. Se HMS-databladet for ytterligere informasjon og lokale forskrifter for avhending.

BRUKSANVISNING

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

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

PRØVEOPPFORMERING

Tabell 2 viser retningslinjer for oppformeringen av mat- og miljøprøver. Det er brukerens ansvar å validere alternative prøveprotokoller eller forfynningsforhold for å sikre at testmetoden møter brukerens krav.

Matvarer

1. La Demi-Fraser-buljongens oppformeringsmedium (inkludert jern(III) ammoniumsitratt) stabiliseres til romtemperaturen i laboratoriet.
2. Bland oppformeringsmedium og prøven aseptisk, i henhold til tabell 2. For alt kjøtt og svært oppdelte prøver anbefales det å bruke filterposer.
3. Homogeniser grundig enten med blender, i Stomacher eller for hånd i 2 ± 0,2 minutter. Inkuber ved 37 ± 1 °C i henhold til tabell 2.
4. For rå meieriprodukter, skal 0,1 ml av den primære oppformeringen overføres til 10 ml Fraser buljong. Inkuber ved 37 ± 1 °C i 20-24 timer.

Miljøprøver

Prøveinnsamlingsenheten kan være en svamp vætet med en nøytraliserende oppløsning for å deaktivere effektene av desinfeksjonsmiddel. 3M anbefaler bruk av en biocidfri cellulosesvamp. Den nøytraliserende oppløsningen kan være Dey-Engley (D/E) nøytraliserende buljong eller Lethen-buljong. Det anbefales å desinfisere området etter prøvetaking.

ADVARSEL: Skulle du velge å bruke en nøytraliserende buffer (NB) som inneholder arysulfonat-kompleks som væteoppløsningen til svampen, må du utføre en 1:2 fortykning (1 del prøve i 1 del steril oppformeringsbuljong) av den oppformerte miljøprøven før testing, for å redusere risikoene forbundet med et falskt negativt resultat som kan lede til utslipp av kontaminert produkt.

Den anbefalte størrelsen på prøveområdet for å verifisere tilstedeværelse eller fravær av patogenet på overflaten, er minst 100 cm² (10 cm × 10 cm eller 4 tommer × 4 tommer). Ved prøvetaking med svamp dekkes hele området i begge retninger (venstre til høyre, deretter opp og ned), eller velg miljømessige prøver ved å følge din aktuelle prøveprotokoll, eller i henhold til retningslinjene i FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ eller ISO 18593⁽⁶⁾.

1. La Demi-Fraser-buljongens oppformeringsmedium (inkludert jern(III) ammoniumsitratt) stabiliseres til romtemperaturen i laboratoriet.
2. Bland oppformeringsmediet og prøven aseptisk, i henhold til tabell 2.
3. Homogeniser grundig enten med blender, i Stomacher eller for hånd i 2 ± 0,2 minutter. Inkuber ved 37 ± 1 °C i 24–30 timer.

Tabell 2: Oppformeringsprotokoller som bruker Demi-Fraser buljongoppformering

Prøvematrikse	Prøvestørrelse	Volum opp- formerings- buljong (ml)	Temperatur oppformerings- buljong (°C)	Oppfor- meringstid (t)				
Varmebehandlet, køkt, spekemat, fjærkre, sjømat og fisk Varmebehandlede/ pasteuriserte melkeprodukter Råvarer og grønnsaker Blandingsmatvarer	25 g	225	37	24–30				
Miljøprøver	1 svamp	100 eller 225	37	24–30				
	1 vattpinne	10	37	24–30				
Rått kjøtt, fjærkre, sjømat, fisk	25 g	475	37	28–32				
Prøvematrikse	Primær oppformering (Demi-Fraser-buljong)				Sekundær oppformering (Fraser-buljong)			Volum prøvea- nalyses(a)
	Prøvestørrelse	Volum opp- formerings- buljong (ml)	Temperatur oppformerings- buljong (°C)	Oppfor- meringstid (t)	Prøvestørrelse	Temperatur oppformerings- buljong (°C)	Oppfor- meringstid (t)	
Rå melkeprodukter	25 g	225	37	20–24	Overfør 0,1 ml til 10 ml Fraser-buljong	37	20–24	10 µl

(a) Volum av prøve overført til lyseringsoppløsningsrør. Se trinn 4.6 av lyseringsdelen.

KLARGJØRING AV 3M™ BRETT TIL HURTIGLADING FOR MOLEKYLÆR DETEKSJON

1. Væt en klut med 1–5 % (volumdelar i vann) husholdningsblekemiddel og tørk av 3M™ Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon.
2. Skyll 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon med vann.
3. Bruk et engangshåndkle til å tørke 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon.
4. Sørg for at 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon er tørt før bruk.

KLARGJØRING AV 3M™ KJØLEBLOKKINNSATS FOR MOLEKYLÆR DETEKSJON

Plasser 3M™ Kjøleblokkinnsett for molekylær deteksjon direkte på laboratoriebenken (3M™ Brett til kjøleblokk for molekylær deteksjon brukes ikke). Bruk kjøleblokken ved laboratoriets romtemperatur (20–25 °C).

KLARGJØRING AV 3M™ VARMEBLOKKINNSATS FOR MOLEKYLÆR DETEKSJON

Plasser 3M™ Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon i en tørr blokkvarmeeinheit. Slå på den tørre blokkvarmeeinheit og still inn temperaturen slik at 3M Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon når og opprettholder en temperatur på 100 ± 1 °C.

MERK: Avhengig av varmeeinheit, gi 3M Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon omtrent 30 minutter på å nå temperaturen. Bruk et passende, kalibrert termometer (f.eks. et delvis nedsenket termometer eller et digitalt termoelement termometer, ikke et fullstendig nedsenket termometer) plassert på det tildelte stedet. Verifiser at 3M Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon er ved 100 ± 1 °C.

KLARGJØRING AV 3M™ INSTRUMENT FOR MOLEKYLÆR DETEKSJON

1. Start programvaren 3M™ molekylær deteksjon, og logg inn.
2. Slå på 3M Instrument for molekylær deteksjon.
3. Opprett eller endre en gjennomkjøring med data for hver prøve. Se brukermanualen for 3M System for molekylær deteksjon for detaljer.

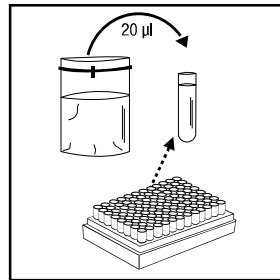
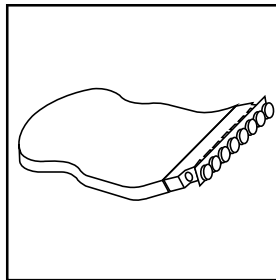
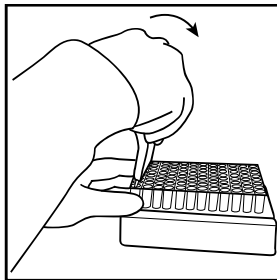
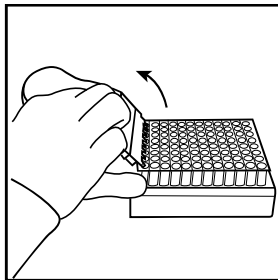
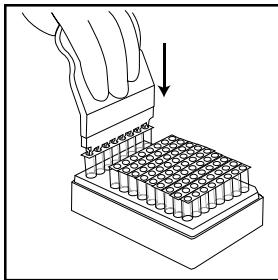
MERK: 3M Instrument for molekylær deteksjon må nå og opprettholde en temperatur på 60 °C før innsetting av 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon med reagensrør. Dette varmetrinnet tar omtrent 20 minutter og indikeres av et ORANSJE lys på instrumentets statuslinje. Når instrumentet er klart for å starte en gjennomkjøring, vil statuslinjen lyse GRØNT.

LYSERING

1. La rørene med lyseringsoppløsningen (LS) varmes opp ved å sette stativet i romtemperatur (20–25 °C) over natten (16–18 timer). Alternativer for å stabilisere LS-rørene til romtemperatur er å sette LS-rørene på laboratoriebenken i minst to timer, inkubere LS-rørene i en inkubator ved 37 ± 1 °C i én time, eller plassere dem i en tørr dobbelblokkvarmeeinheit i 30 sekunder ved 100 °C.
2. Vend de lukkede rørene for å blande, opptil fire timer før bruk.
3. Fjern oppformeringsbuljongen fra inkubatoren.
4. Det trengs ett LS-rør for hver prøve og den negative kontroll (NC)-prøven (sterilt oppformeringsmedium).
 - 4.1 LS-rørstrimler kan skjæres opp til ønsket antall LS-rør. Velg det nødvendige antall individuelle LS-rør eller 8-rørstrimler. Plasser LS-rørene i et tomt stativ.
 - 4.2 For å unngå krysskontaminering, åpne én av LS-rørstrimlene om gangen og bruk en ny pipettespiss for hvert overføringstrinn.
 - 4.3 Overfør oppformert prøve til LS-rørene som beskrevet under:

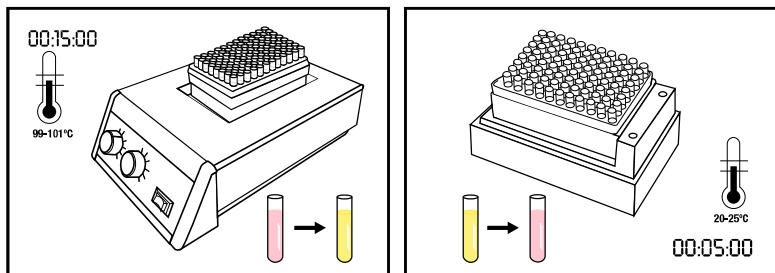
Overfør hver oppformerte prøve til individuelle LS-rør **først**. Overfør NC-prøven **til sist**.

- 4.4 Bruk 3M™ Verktøy for lukking/åpning av lyseringsrør for molekylær deteksjon for å åpne opp rekken av LS-rør – én rekke om gangen.
 - 4.5 Avhend LS-rørløkket – dersom lysat skal holdes tilbake for ny test, plasserer du løkkene i en ren beholder for å sette dem på igjen etter lysering. Se vedlegg A for prosessering av tilbakeholdt lysat.
 - 4.6 Overfør 20 µl med prøve til et LS-rør, med mindre noe annet er indikert i protokolltabellen.
5. Gjenta trinn 4.2 til alle individuelle prøver er lagt til et korresponderende LS-rør i rekken.



6. Gjenta trinnene 4.1 til 4.6 som nødvendig, for antallet prøver som skal testes.
7. Når alle prøver har blitt overført, overfør 20 µl med NC (sterilt oppformeringsmedium, f.eks. Demi-Fraser-buljong) over i et LS-rør. Ikke bruk vann som negativ kontroll.
8. Verifiser at 3M Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon har en temperatur på 100 ± 1 °C.

9. Plasser det utildekkede stativet med LS-rør i 3M Varmeblokkinnatts for molekylær deteksjon og varm opp i 15 ± 1 minutter. Under oppvarmingen vil LS-oppløsningen endre farge fra rosa (kald) til gul (varm).
- Prøver som ikke har blitt korrekt varmebehandlet under testlyseringstrinnet kan vurderes som en potensiell biologisk fare og skal IKKE settes inn i 3M Instrument for molekylær deteksjon.
10. Fjern det utildekkede stativet med LS-rør fra varmekblokken og la det avkjøles i 3M Kjøleblokkinnatts for molekylær deteksjon i minst 5 minutter og maksimum 10 minutter. Når 3M Kjøleblokkinnatts for molekylær deteksjon brukes ved romtemperatur uten brett til kjøleblokk for molekylær deteksjon, skal det plasseres direkte på laboratoriebenken. Når den er avkjølt, vil lyseringsoppløsningen endre farge tilbake til rosa.
11. Fjern stativet med LS-rør fra 3M Kjøleblokkinnatts for molekylær deteksjon.

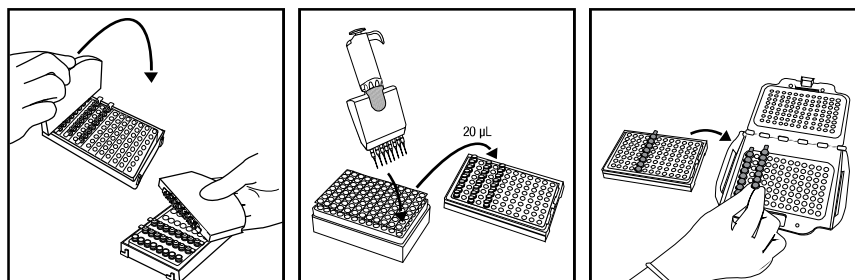


AMPLIFIKASJON

- Ett reagensrør er nødvendig for hver prøve og NC-prøven.
 - 1.1 Rekker av reagensrør kan kuttes opp til ønsket antall rør. Velg det nødvendige antall individuelle reagensrør eller 8-rørstrimler.
 - 1.2 Plasser reagensrørene i et tomt stativ.
 - 1.3 Unngå å forstyrre reagenspelletsene i bunnen av rørene.
- Velg ett reagenskontrollrør (RC) og plasser det i stativet.
- For å unngå krysskontaminering, ta av lokket på én reagensrørrekke av gangen, og bruk ny pipettespiss ved hvert trinn av prøveoverføring.
- Overfør lysat til reagensrør og RC-rør som beskrevet under:

Overfør hver prøvelysing til individuelle reagensrør **først** etterfulgt av NC-prøven. Væt RC-røret **til sist**.

- Bruk 3M™ Verktøy for lukking/åpning av reagensrør til å åpne reagensrørene – én reagensrørrekke om gangen. Kast lokk.
 - 5.1 Overfør 20 µl prøvelysat fra LS-røret til korresponderende reagensrør. Overfør i vinkel for å unngå å forstyrre pelletene. Bland forsiktig ved å bevege pipetten opp og ned 5 ganger.
 - 5.2 Gjenta trinn 5.1 til alle individuelle prøvelysinger er lagt til korresponderende reagensrør i rekken.
 - 5.3 Dekk til reagensrørene med det medfølgende ekstra lokket, og bruk den runde siden av 3M Verktøy for lukking/åpning av reagensrør for molekylær deteksjon til å legge på trykk med en fram-og-tilbake-bevegelse som sikrer at lokket sitter godt på.
 - 5.4 Gjenta trinn 5.1 som nødvendig, for det antall valgte prøver som skal testes.
 - 5.5 Når alle prøvelysingene er overført, gjenta 4.1 for å overføre 20 µl med NC-prøvelysat til et reagensrør.
 - 5.6 Overfør **20 µl med NC-lysat over i et RC-rør**. Overfør i vinkel for å unngå å forstyrre pelletene. Bland forsiktig ved å bevege pipetten opp og ned 5 ganger.
- Sett lukkede rør over i et rent og dekontaminert 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon. Lukk og lås lokket til 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon.



- Se igjennom og bekreft den konfigurerte gjennomkjøringen i programvaren 3M Molekylær deteksjon.
- Klikk på Start-knappen i programvaren og velg et instrument å bruke. Det valgte instrumentets lokk åpnes automatisk.
- Plasser 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon inn i 3M Instrument for molekylær deteksjon og lukk lokket for å starte testen. Resultatene er klare innen 75 minutter, mens positive kanskje blir oppdaget raskere.
- Etter at testen er fullført, fjern 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon fra 3M Instrument for molekylær deteksjon og avhend rørene ved å senke dem i en 1–5 % (volumandel i vann) husholdningsblekemiddel i én time og borte fra testens forberedelsesområde.

MERKNAD: For å minimere risikoen for falske positive resultat på grunn av krysskontaminering, skal aldri reagensrør som inneholder amplifisert DNA åpnes. Dette inkluderer reagenskontroll-, reagens- og matrisekontrollrør. Avhend alltid de forseglede rørene ved å senke dem i et 1–5 % (volumandel i vann) husholdningsblekemiddel i én time og borte fra testens forberedelsesområde.

RESULTATER OG TOLKNING

En algoritme tolker lysutmatingkurven som er resultatet av deteksjonen av nukleinsyresekvenser. Resultatene analyseres automatisk av programvaren og er fargekodet basert på resultatet. Et positivt eller negativt resultat fastslår av analysen av et antall unike kurveparametere. Antatt positive resultater rapporteres i sanntid, mens negative og inspiser-resultater vil vises etter at gjennomkjøringen er fullført.

Antatt positive prøver må bekreftes i henhold til laboratoriets standardprosedyrer, eller ved å følge den aktuelle referansemetoden ^(1, 2, 3). Begynn med overføring fra den primære oppformeringsbuljongen til den sekundære oppformeringsbuljongen (hvis aktuelt), etterfulgt av påfølgende plating og bekreftelse av isolerte ved hjelp av biologiske og serologiske metoder.

MERK: Ikke engang en negativ prøve vil gi et nullresultat ettersom systemet og 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *Listeria monocytogenes* forsterkerreagenser har en «bakgrunns», relativ lysenhet (RLU).

I sjeldne tilfeller med uvanlig lysutmating, vil algoritmen merke dette som «Inspect» (inspiser). 3M anbefaler brukeren å gjenta testen for alle inspiser-prøver. Dersom resultatet fortsatt er «Inspect» (inspiser), fortsett til bekreftelsestesten og bruk din foretrukne metode eller som spesifisert i lokale forskrifter.

Hvis du har spørsmål om spesifikke bruksområder eller prosedyrer, besøk vår nettside på www.3M.com/foodsafety eller ta kontakt med en lokal 3M-representant eller forhandler.

REFERANSER:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

Vedlegg A. Avbrytelse av protokoll: Lagring og ny testing av varmebehandlede lysater

1. Lukk igjen lyseringsrøret med et rent lokk for å oppbevare en varmebehandlet lysat (se «Lysering», 4.5)
2. Oppbevar ved 4 til 8 °C i opptil 72 timer.
3. Forbered en lagret prøve for amplifikasjon ved å vende 2–3 ganger for å blande.
4. Åpne rørene.
5. Plasser de blandede lysatrørene på 3M Varmeblokkinnsetts for molekylær deteksjon og varm ved 100 ± 1 °C i 5 ± 1 minutter.
6. Fjern det utildekkede stativet med LS-rør fra varmeklokken og la det avkjøles i 3M Kjøleblokkinnsetts for molekylær deteksjon i minst 5 minutter og maksimum 10 minutter.
7. Fortsett protokollen ved «Amplifikasjon»-delen beskrevet ovenfor.

FORKLARING AV SYMBOLER PÅ PRODUKTETIKETT



Forsiktig eller Advarsel, se produktveiledningen.



Se i produktveiledningen.



De innrammede bokstavene LOT angir partinummeret.



Timeglasset er etterfulgt av en måned og et årstall, som viser utløpsdatoen.



Grenser for lagringstemperatur.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Tuoteseloste

MDA2LM096

Molekyläärinen testisetti 2 - *Listeria monocytogenes*

TUOTTEEN KUVAUS JA KÄYTTÖTARKOITUS

3M™ Molekyläärinen testisetti 2 - *Listeria monocytogenes* käytetään yhdessä 3M™ Molekyläärisen testijärjestelmän kanssa *Listeria*-lajien nopeaa ja täsmällistä tunnistamista varten rikastetuista elintarvike- ja ympäristönäytteistä.

3M Molekylääriset testisetit perustuvat nukleiinihapposekvenssien nopeaan, täsmälliseen ja herkkään silmukavälitteiseen isotermiseen monistamismenetelmään (loop-mediated isothermal amplification, LAMP) ja käyttävät monistuksen havaitsemiseen bioluminesenssia. Oletetut positiiviset tulokset ilmoitetaan reaaliaikaisesti, kun taas negatiiviset tulokset näytetään testin valmistumisen jälkeen. Oletetut positiiviset tulokset on vahvistettava käyttämällä itse parhaaksi katsottua tai paikallisten määräysten mukaista menetelmää^(1, 2, 3).

3M Molekyläärinen testisetti 2 - *Listeria monocytogenes* on tarkoitettu laboratoriotekniikoihin koulutettujen ammattilaisten käytettäväksi. 3M ei ole osoittanut tuotetta käytettäväksi muilla kuin elintarvike- ja juomateollisuuden aloilla. 3M ei esimerkiksi ole osoittanut tuotetta vesi-, lääke- tai kosmetiikkänäytteiden testaamiseen eikä kliinisten tai eläinlääketieteellisten näytteiden testaamiseen. 3M molekyläärinen testisetti 2 - *Listeria monocytogenes* ei ole arvioitu kaikilla mahdollisilla testausmenetelmillä eikä kaikilla mahdollisilla bakteerikannoilla.

Kuten kaikissa testimenetelmissä, rikastusaineen lähde voi vaikuttaa tuloksiin. 3M on arvioinut 3M molekyläärinen testisetti 2 - *Listeria monocytogenes* käyttäen ferriammoniumsitraattia sisältävää Demi-Fraser Elatusainetta. Seuraavassa esitetään kyseisen aineen tyyppinen koostumus.

Demi-Fraser Elatusaineen pohjan tyyppinen koostumus (g/l)

natriumkloridi	20 g
natriumfosfaatti, kaksiammatsinen, vedetön*	9,6 g
naudanlihuute	5,0 g
kaseiinin pankreaasihydrolysaatti	5,0 g
entsymaattisesti pilkottu eläinkudos	5,0 g
hiivauute	5,0 g
litiumkloridi	3,0 g
kaliumfosfaatti, yksiammatsinen	1,35 g
eskuliini	1,0 g
Acriflavin HCl	0,0125 g
nalidiksiinihappo	0,01 g
* Substituutti: natriumfosfaatti, kaksiammatsinen, dihydraatti	12,0 g

Fraser Elatusaineen Supplementti

(Ainesosat / 10 ml:n pullo. Yksi pullollinen lisätään yhteen litraan peruselatusainetta.)

ferriammoniumsitraatti	0,5 g / 10 ml
------------------------	---------------

Lopullinen pH 7,2 ± 0,2 25 °C:ssa

3M™ Molekyläärinen testi-instrumentti on tarkoitettu käytettäväksi sellaisten näytteiden kanssa, joille on tehty lämpökäsittely testin lyysivaiheen aikana, minkä tarkoituksena on tuhota näytteessä olevat organismit. Jos näytteitä ei ole asianmukaisesti lämpökäsitelty testin lyysivaiheen aikana, ne saattavat muodostaa biologisen vaaratekijän, jolloin niitä EI saa asettaa 3M Molekylääriseen testi-instrumenttiin.

3M Food Safety -osaston suunnittelu- ja valmistusmenetelmät on ISO (International Organization for Standardization) 9001 -sertifioitu.

3M Molekyläärinen testisetti 2 - *Listeria monocytogenes* sisältää 96 testiä, jotka on kuvattu taulukossa 1.

Taulukko 1. Paketin sisältö

Nimike	Tunnusmerkki	Määrä	Sisältö	Kommentit
Lyysiliuosputket (LS)	Vaaleanpunainen liuos läpinäkyvässä putkissa	96 (12 kpl 8 putken liuskoja)	580 µl lyysiliuosta/putki	Telineessä ja käyttövalmis
<i>Listeria monocytogenes</i> reagenssiputket	Keltaiset putket	96 (12 kpl 8 putken liuskoja)	Lyofilisoitu erityinen monistus- ja tunnistusyhdistelmä	Käyttövalmis
Lisäsuojukset	Keltaiset suojukset	96 (12 kpl 8 suojuksen liuskoja)		Käyttövalmis
Reagenssin valvonta (RC)	Läpinäkyvät flip-top-putket	16 (2 pussia, joissa kummassakin 8 yksittäistä putkea)	Lyofilisoitu kontrolli-DNA, monistus- ja tunnistusyhdistelmä	Käyttövalmis
Pikaopas		1		

Negatiivisena kontrollina, jota ei toimiteta paketissa, käytetään steriiliä rikastusainetta, kuten Demi-Fraser Elatusainetta. Älä käytä vettä negatiivisena kontrollina.



TURVALLISUUS

Käyttäjän on luettava ja ymmärrettävä kaikki ohjeissa luetellut, 3M Molekylääristä testijärjestelmää ja 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *Listeria monocytogenes* koskevat turvallisuustiedot. Säilytä turvallisuusohjeet myöhemmää käyttöä varten.

- ⚠ **VAROITUS:** Osoittaa vaarallisen tilanteen, joka saattaa johtaa kuolemaan tai vakavaan loukkaantumiseen ja/tai omaisuusvahinkoon, jos tilannetta ei vältetä.
- ⚠ **VAROTOIMI:** Osoittaa vaarallisen tilanteen, joka saattaa johtaa lievään tai kohtalaiseen loukkaantumiseen ja/tai omaisuusvahinkoon, jos tilannetta ei vältetä.

HUOMAUTUS: Osoittaa mahdollisesti vaarallisen tilanteen, joka saattaa johtaa omaisuusvahinkoon, jos tilannetta ei vältetä.

⚠ VAROITUS

Älä käytä 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *Listeria monocytogenes* sairauksien diagnosointiin ihmisillä tai eläimillä.

3M Molekyläärinen testisetti 2 - *Listeria monocytogenes* -menetelmä saattaa aiheuttaa *Listeria monocytogenes*-bakteerien nousemisen tasolle, joka riittää aiheuttamaan sikiön syntymisen kuolleena ja hengenvaaran raskaana oleville naisille ja immuunipuutteisille, jos he altistuvat niille.

Käyttäjän on järjestettävä henkilökunnalleen koulutusta ajantasaisista ja asianmukaisista testausmenetelmistä, kuten esimerkiksi Good Laboratory Practices, ISO 17025⁽⁴⁾ tai ISO 7218⁽⁵⁾.

Jotta voit vähentää vääristä negatiivisista tuloksista aiheutuvia pilaantuneen elintarvikkeen markkinoille pääsyyn liittyviä riskejä, toimi seuraavasti:

- Noudata käytäntöä ja tee testit täsmälleen tuoteselosteessa esitetyllä tavalla.
- Säilytä 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *Listeria monocytogenes* -tunnistusjärjestelmää pakkausmerkintöjen ja tuotteen ohjeistuksen mukaan.
- Käytä 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *Listeria monocytogenes* aina ennen viimeistä käyttöpäivää.
- Käytä 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *Listeria monocytogenes* -tunnistusjärjestelmää sellaisiin elintarvike- ja ympäristönäytteisiin, jotka on validoitu sisäisesti tai ulkopuolisen tahon toimesta.
- Käytä 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *Listeria monocytogenes* -tunnistusjärjestelmää vain sellaisten pintojen, hygieniatuotteiden, protokollien ja bakteerikantojen yhteydessä, jotka on validoitu sisäisesti tai kolmannen osapuolen toimesta.
- Ympäristönäytteet, joissa käytetään neutraaloivaa puskuria, joka sisältää aryyilsulfonaattikompleksia, suorita 1:2-laimennus ennen testausta (1 osa näytettä 1 osaan steriiliä rikastusliuosta). 3M:nTM näytteidenkäsittelytuotteet, jotka sisältävät neutraaloivaa puskuria: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB ja HS119510NB.

Vähennä kemikaaleille altistumiseen ja biologisiin vaaratekijöihin liittyviä riskejä noudattamalla seuraavia ohjeita:

- On erittäin suositeltavaa, että naispuolisille laboratoriotyöntekijöille kerrotaan sikiölle aiheutuvasta riskistä, jos äiti altistuu *Listeria monocytogenes* -bakteerille ja saa tartunnan.
- Suorita taudinaiheuttajan testaus asianmukaisesti varustetussa laboratoriossa koulutetun henkilöstön valvonnassa.
- Noudata aina laboratorioden standardeja turvallisuuskäytäntöjä, joihin kuuluu asianmukaisten suojavaatteiden ja silmiensuojainten käyttäminen käsiteltäessä reagensseja ja kontaminoituja näytteitä.
- Vältä kosketusta rikastusaineen ja reagenssiputkien sisällön kanssa vahvistamisen jälkeen.
- Hävitä rikastetut näytteet alan nykykäytäntöjen mukaisesti.

Ristikontaminaation vaaran vähentäminen testin valmistelun yhteydessä:

- Käytä aina suojakäsineitä (käyttäjän suojaamiseksi ja nukleaasien estämiseksi).

Vähennä ympäristön saastumiseen liittyviä riskejä toimimalla seuraavasti:

- Noudata saastuneen jätteen hävittämisessä ajantasaisia alan standardeja.

⚠ VAROTOIMI

- Älä ylitä lämmityslaitteeseen merkittyä suositeltua lämpötila-asetusta.
- Älä ylitä suositeltua kuumennusaikaa.
- Tarkasta 3M Molekyläärinen testilämpölokko pistokkeen lämpötila tarkoituksenmukaisella kalibroidulla lämpömittarilla (esim. osittain upotettavalla lämpömittarilla tai digitaalisella termoparimittarilla). Lämpömittari on asetettava sille määrättyyn paikkaan 3M Molekyläärisen testilämpölokko pistokkeessa.

HUOMAUTUS

Ristikontaminaation vaaran vähentäminen testin valmistelun yhteydessä:

- Steriilien aerosoliesteen muodostavien (suodatettujen) molekyylibiologian luokkaa olevien pipetinkärkien käyttö on suositeltavaa.
- Käytä jokaisen näytteen siirtämiseen uutta pipetin kärkeä.
- Käytä näytteiden siirtämiseen rikastamisesta lyysiputkeen hyviä laboratoriokäytäntöjä. Pipetoijan kontaminoitumisen välttämiseksi käyttäjä voi halutessaan lisätä ylimääräisen siirtovaiheen. Jokaisen rikastetun näytteen voi esimerkiksi siirtää steriiliin putkeen.
- Jos mahdollista, käytä molekyylibiologista työasemaa, jossa on bakteerintuholamppu.

Värien positiivisten tulosten vaaran vähentäminen:

- Älä avaa putkia monistuksen jälkeen.
- Hävitä kontaminoituneet putket aina liottamalla niitä 1–5 %:ssa (veteen laimennetussa) valkaisuaineliuoksessa 1 tunti etäällä määrityksenvalmistelualueelta.

Katso lisätietoja hävittämisestä ja paikallisista määräyksistä välineiden käyttöturvallisuustiedotteesta.

Jos sinulla on jotain tiettyä sovellusta tai menetelmää koskevia kysymyksiä, käy verkkosivuiltamme osoitteessa www.3M.com/foodsafety tai ota yhteyttä paikalliseen 3M-edustajaan tai -jälleenmyyjään.

TAKUUN RAJOITUS / RAJOITETTU KORVAUSVELVOLLISUUS

3M KIISTÄÄ KAIKKI ERIKOIS JA EPÄSUORAT TAKUUT MUKAAN LUKIEN KAIKKI TAKUUT KÄYPYYDESTÄ TAI SOPIVUUDESTA TIETTYYN KÄYTTÖTARKOITUKSEEN, PAITSI JOS TUOTEPAKKAUKSEN TAKUUSIOSSA TOISIN MAINITAAN. Jos mikä tahansa 3M Food Safety -tuote on viallinen, 3M tai sen valtuutettu jälleenmyyjä joko korvaa tuotteen tai palauttaa sen ostohinnan. Nämä ovat ainoat myönnetyt korvaukset. Käyttäjän on ilmoitettava viipymättä kuudenkymmenen päivän sisällä kaikista epäilyistä tuotevirheistä ja palautettava tuote 3M:lle. Ota yhteys 3M Food Safety -edustajaan saadaksesi palautusohjeet.

3M:N VASTUUN RAJOITUKSET

3M EI OLE VASTUUSSA MENETYKSISTÄ TAI VAHINGOISTA, OLIVAT NE SITTEN SUORIA, EPÄSUORIA, ERITYISLAATUISIA, SATUNNAISIA TAI VÄLILLISIÄ, MUKAAN LUKIEN VOITONMENETYKSET. Missään tapauksessa 3M:n vastuu ei minkään laillisen perusteen mukaan ole suurempi kuin vialliseksi väitetyn tuotteen hinta.

KÄYTTÄJÄN VASTUU

Käyttäjän vastuulla on tutustua tuotteen käyttöohjeisiin ja tietoihin. Saadaksesi lisätietoja vieraile verkkosivuiltamme osoitteessa www.3M.com/foodsafety, tai ota yhteyttä paikalliseen 3M tytäryhtiöön tai jälleenmyyjään.

Testausmenetelmää valitessa on tärkeää ottaa huomioon, että ulkoiset tekijät, kuten näytteenottomenetelmät, testausprotokollat, näytteiden valmistus, käsittely ja laboratoriotekniikat voivat vaikuttaa testaustuloksiin.

Käyttäjä on aina testausmenetelmää valitessaan vastuussa siitä, että hän arvioi riittävän määrän näytteitä kyseisistä elintarvikkeista ja mikrobialtistuksista varmistamaan käyttäjän kriteerien täyttymisen.

Käyttäjän vastuulla on myös varmistaa, että testausmenetelmä ja tulokset täyttävät hänen asiakkaidensa tai toimittajiensa vaatimukset.

Kuten kaikkien testausmenetelmien kohdalla, mikä tahansa 3M Food Safety -tuotteen käytöstä saavutetut tulokset eivät ole takuu matriisien tai testatuiden prosessien laadusta.

Voidakseen auttaa erilaisten elintarvikematriisien arvioinnissa 3M on kehittänyt 3M™ Molekyläärinen testitaulukon valvontapakkauksen. Määritä tarvittaessa Matrix Control (MC) -pakkauksen avulla, vaikuttaako matriisi 3M Molekyläärinen testisetin 2 - *Listeria monocytogenes* tuloksiin. Testaa validointivaiheiden aikana useita matriisia edustavia näytteitä, ts. eri lähteistä saatuja näytteitä, kun olet ottamassa käyttöön 3M-menetelmää tai kun olet testaamassa uusia tai tuntemattomia matriiseja, tai matriiseja, joiden raaka-aineita tai valmistustapoja on muutettu.

Matriisi voidaan määrittää tuotetyypiksi, jolla on sisäisiä ominaisuuksia, kuten koostumus ja valmistustapa. Matriisien väliset erot voivat johtua niinkin yksinkertaisista tekijöistä kuin eroista niiden käsittelyssä tai esittämistavassa, esim. raaka tai pastöroitu, tuore tai kuivattu jne.

SÄILYTYS JA HÄVITTÄMINEN

Säilytä 3M Molekyläärinen testisetin 2 - *Listeria monocytogenes* 2–8 °C:n lämpötilassa. Ei saa pakastaa. Säilytä paketti valolta suojattuna. Kun olet avannut paketin, tarkista, että foliopussi on ehjä. Jos pussi on vahingoittunut, älä käytä. Avaamisen jälkeen käyttämättömät reagenssiputket on aina säilytettävä uudelleensuljettavassa pussissa, jonka sisällä on kuivausainetta lyofilisoitujen reagenssien stabiliteetin ylläpitämiseksi. Säilytä uudelleensuljettuja pusseja 2–8 °C:n lämpötilassa enintään 60 päivän ajan.

Älä käytä 3M Molekylääristä testisetin 2 - *Listeria monocytogenes* viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Viimeinen käyttöpäivä ja eränumero on merkitty pakkauksen ulkopuolelle. Käytön jälkeen rikastusaine ja 3M Molekyläärinen testisetin 2 - *Listeria monocytogenes* putket voivat sisältää patogeenisia aineita. Kun testi on suoritettu loppuun, noudata saastuneen jätteen hävittämisessä ajantasaisia alan standardeja. Katso lisätietoja hävittämisestä ja paikallisista määräyksistä välineiden käyttöturvallisuustiedotteesta.

KÄYTTÖOHJEET

Noudata huolellisesti kaikkia ohjeita. Jos ohjeita ei noudateta, seurauksena saattaa olla tulosten epätarkkuus.

Steriloi laboratorion työtasot ja välineet (pipetit, cap/decap-työkalut jne.) säännöllisesti 1–5 %:n (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuliuksella tai DNA:n poistoliuksella.

NÄYTTEEN RIKASTAMINEN

Taulukossa 2 on ohjeet elintarvike- ja ympäristönäytteiden rikastamiseen. Käyttäjän vastuulla on vahvistaa vaihtoehtoisten näytteenottokäytäntöjen ja laimennussuhteiden soveltuvuus sen varmistamiseksi, että testimenetelmä vastaa käyttäjän kriteereitä.

Elintarvikkeet

1. Anna Demi-Fraser Elatusaineen rikastusaineen (sisältää ferriammoniumsitraattia) lämpötilan tasaantua laboratorion ilman lämpötilan tasolle.
2. Yhdistä rikastusaine ja näyte aseptisesti taulukon 2 mukaisesti. Kaikkien lihanäytteiden ja erittäin hiukkaspitoisten näytteiden yhteydessä suositellaan käyttämään suodatinpusseja.
3. Homogenisoi huolellisesti sekoittamalla, sekoitinta käyttämällä tai käsin $2 \pm 0,2$ minuutin ajan. Inkuboi 37 ± 1 °C:ssa taulukon 2 mukaisesti.
4. Siirrä raakojen maitotuotteiden yhteydessä 0,1 ml ensimmäistä rikastusta 10 ml:aan Fraser Elatusainetta. Inkuboi 37 ± 1 °C:ssa 20–24 tunnin ajan.

Ympäristönäytteet

Näytteen keräysväline voi olla neutraaloivalla liuoksella kostutettu sieni, joka inaktivoi puhdistusaineiden vaikutukset. 3M suosittelee biosideja sisältämättömän selluloosasienen käyttämistä. Neutraaloina liuoksena voidaan käyttää Dey-Engley (D/E) Neutralointiainetta tai letheeniliuosta. On suositeltavaa desinfioida alue näytteenoton jälkeen.

VAROITUS: Jos sinun on käytettävä neutraaloivaa puskuriliuosta, joka sisältää aryyilisulfonaattiyhdistelmää, kuten sienien kostutusliuos, sinun on tehtävä 1: 2-laimennus (1 osa näytettä 1 osaan steriiliä rikastusliettä) rikastetulle ympäristönäytteelle ennen testausta. Näin vähennät väärin negatiivisiin tuloksiin liittyviä riskejä, joiden seurauksena ympäristöön saattaa joutua saastunut tuote.

Jotta pinnasta voidaan varmistaa patogeenin olemassaolo tai sen puuttuminen, näytteenottoalueen suositeltava koko on vähintään 100 cm² (10 cm x 10 cm). Kun otat näytettä sienellä, kerää se koko alueelta etenemällä kahdessa suunnassa (vasemmalta oikealle ja sen jälkeen ylhäältä alas), tai kerää ympäristönäytteet noudattamalla paikallisia ajantasaisia näytteenottokäytäntöjä tai FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ tai ISO 18593⁽⁶⁾ -suositusten mukaisesti.

1. Anna Demi-Fraser Elatusaineen rikastusaineen (sisältää ferriammoniumsitraattia) lämpötilan tasaantua laboratorion ilman lämpötilan tasolle.
2. Yhdistä rikastusaine ja näyte aseptisesti taulukon 2 mukaisesti.
3. Homogenisoi huolellisesti sekoittamalla, sekoitinta käyttämällä tai käsin $2 \pm 0,2$ minuutin ajan. Inkuboi 37 ± 1 °C:ssa 24–30 tunnin ajan.

Taulukko 2: Rikastuskäytännöt Demi-Fraser Elatusainetta käytettäessä

Näytematriisi	Näytteen koko	Rikastusliemen tilavuus (ml)	Rikastuslämpötila (°C)	Rikastusaika (h)				
Lämpökäsitelty, keitetyt, suolatut lihat, siipikarjat, äyriäiset ja kalat Lämpökäsitelty / pastöroidut maitotuotteet Viljat, hedelmät ja vihannekset Yhdistelmäelintarvikkeet	25 g	225	37	24–30				
Ympäristönäytteet	1 sieni	100 tai 225	37	24–30				
	1 tikku	10	37	24–30				
Raaka liha, siipikarja, äyriäiset, kala	25 g	475	37	28–32				
Näytematriisi	Ensimmäinen rikastus (Demi-Fraser Elatusaine)				Toinen rikastus (Fraser Elatusaine)			Näytteen analyysitilavuus ^(a)
	Näytteen koko	Rikastusliemen tilavuus (ml)	Rikastuslämpötila (°C)	Rikastusaika (h)	Näytteen koko	Rikastuslämpötila (°C)	Rikastusaika (h)	
Raa'at maitotuotteet	25 g	225	37	20–24	Siirrä 0,1 ml 10 ml:aan Fraser Elatusainetta	37	20–24	10 µL

(a) Lyysiputkiin viedyn näytteen tilavuus. Katso Lyysi-osion vaihe 4.6.

3M™ MOLEKYLÄÄRISEN TESTINOPEUDEN LATAUSALUSTAN VALMISTELU

1. Kostuta liina 1–5 %:n (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuliuoksella ja pyyhi 3M™ Molekylärisen testinopeuden latausalusta.
2. Huuhtelee 3M Molekylärisen testinopeuden latausalusta vedellä.
3. Pyyhi 3M Molekylärisen testinopeuden latausalusta kuivaksi kertakäyttöisellä liinalla.
4. Varmista ennen käyttöä, että 3M Molekylärisen testinopeuden latausalusta on kuiva.

**3M™ MOLEKYLÄÄRISEN TESTIJÄÄHDYTYSLOHKON PISTOKKEEN VALMISTELU**

Aseta 3M™ Molekylääriksen testijäähdytyslohko suoraan laboratorion työtasolle (3M™ Molekylääriksen testijäähdytyslohkon alustaa ei käytetä). Käytä jäähdytyslohkkoa laboratorion ilman lämpötilassa (20–25°C).

3M™ MOLEKYLÄÄRISEN TESTILÄMPÖLOHKON PISTOKKEEN VALMISTELU

Aseta 3M™ Molekylääriksen testilämpölohkon pistoke kuivalohkolämmittimeen. Kytke kuivalohkolämmitin päälle, aseta lämpötila ja anna 3M Molekylääriksen testilämpölohkon pistokkeen lämmetä 100 ± 1 °C:n lämpötilaan niin, että saavutettu lämpötila pysyy.

HUOMIO Anna 3M Molekylääriksen testilämpölohkon pistokkeen lämmetä asetustilanteeseen noin 30 minuuttia lämmityslaitteen mukaan. Varmista tarkoituksenmukaisen, sille määrättyyn paikkaan asetetun kalibroidun lämpömittarin (esim. osittain upotettavan lämpömittarin tai digitaalisen termoparimittarin, ei kuitenkaan kokonaan upotettavan lämpömittarin) avulla, että 3M Molekylääriksen testilämpölohkon pistokkeen lämpötila on 100 ± 1 °C.

3M™ MOLEKYLÄÄRISEN TESTI-INSTRUMENTIN VALMISTELU

1. Käynnistä 3M™ Molekylääriksen testijärjestelmän ohjelmisto ja kirjaudu sisään.
2. Kytke 3M Molekylääriksen testi-instrumentti päälle.
3. Luo tai muokkaa ajo kunkin näytteen tiedoille. Katso tarkemmat tiedot 3M Molekylääriksen testijärjestelmän käyttöoppaasta.

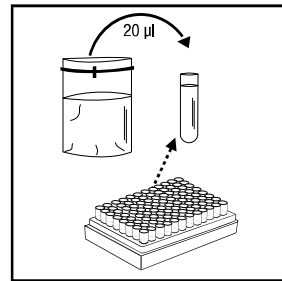
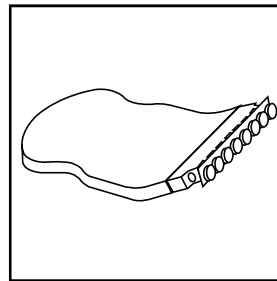
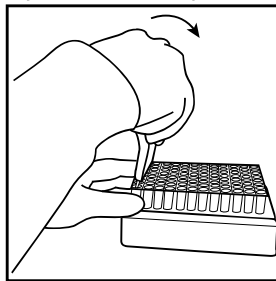
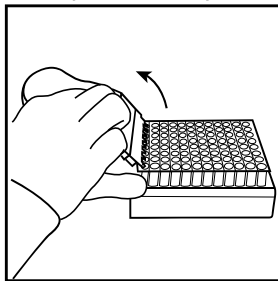
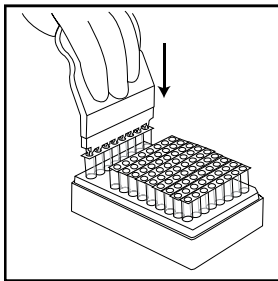
HUOMIO 3M Molekylääriksen testi-instrumentin on saavutettava ja pidettävä 60 °C:n lämpötila ennen 3M Molekylääriksen testinopeuden latausalustan ja reaktioputkien asettamista laitteeseen. Lämmitysvaihe kestää noin 20 minuuttia, ja siitä on merkinä instrumentin tilarivillä palava ORANSSI valo. Kun instrumentti on valmis ajon käynnistämistä varten, tilarivin valo muuttuu VIHREÄKSI.

LYYSI

1. Anna lyysiliuosputkien (LS-putkien) lämmetä huoneenlämpöiseksi (20–25 °C) säädetyssä telineessä 16–18 tunnin ajan. Lyysiliuoksen lämpötilan voi mukauttaa huoneenlämpöön myös asettamalla ne laboratorion työtasolle vähintään 2 tunniksi, inkuboimalla ne inkubaattorissa 37 ± 1 °C:ssa vähintään 1 tunnin ajan tai asettamalla ne kaksilohkoiseen kuivalämmittimeen 100°C:een 30 sekunniksi.
2. Käännä suojuksella suljetut putket sekoitusasentoon viimeistään 4 tuntia ennen käyttöä.
3. Poista rikastusliemi inkubaattorista.
4. Kutakin näytettä sekä negatiivista kontrollia (steriili rikastusaine) kohden tarvitaan yksi lyysiliuosputki.
 - 4.1 LS-putkiliuskat voidaan leikata haluttuun LS-putkien määrään. Valitse tarvitsemasi yksittäisten LS-putkien tai 8 putken liuskojen määrä. Aseta LS-putket tyhjään telineeseen.
 - 4.2 Ristisaastumisen välttämiseksi poista suojus 1:stä LS-putkiliuskasta kerrallaan ja käytä jokaiseen siirtovaiheeseen uutta pipettiä.
 - 4.3 Siirrä rikastettu näyte LS-putkiin seuraavien ohjeiden mukaisesti:

Siirrä jokainen rikastettu näyte **ensin** yksittäiseen LS-putkeen. Siirrä negatiivinen kontrolli (NC) **viimeiseksi**.

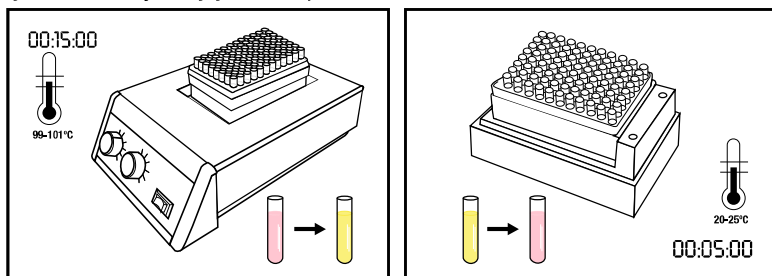
- 4.4 Käytä 3M™ Molekylääriksen testin cap/decap-työkalua - Lysis yhden LS-putkiliuskan avaamiseen. Avaa 1 liuska kerrallaan.
- 4.5 Heitä LS-putken suojus pois – jos lysaatti säilytetään uudelleen testausta varten, laita suojukset puhtaaseen astiaan lyysin jälkeistä uudelleenkäyttöä varten. Säilytetyn lysaatin käsittelyyn liittyvät ohjeet ovat liitteessä A.
- 4.6 Siirrä 20 µl näytettä LS-putkeen, jollei näytteenottokäytäntötaulukossa muuta mainita.
5. Toista vaihetta 4.2, kunnes kukin yksittäinen näyte on lisätty vastaavaan LS-putkeen liuskassa.



6. Toista tarvittaessa vaiheet 4.1–4.6 testattavien näytteiden määrän mukaan.
7. Kun kaikki näytteet on siirretty, siirrä 20 µl negatiivista kontrollia (steriili rikastusaine, kuten Demi-Fraser Elatusaine) LS-putkeen. Älä käytä vettä negatiivisena kontrollina.
8. Varmista, että 3M Molekylääriksen testilämpölohkon pistokkeen lämpötila on 100 ± 1 °C.
9. Aseta peittämätön LS-putkiteline 3M Molekylääriksen testilämpölohkon pistokkeeseen ja kuumenna 15 ± 1 minuuttia. Kuumennuksen aikana lyysiliuoksen väri muuttuu vaaleanpunaisesta (viileä) keltaiseksi (kuuma).
Jos näytteitä ei ole asianmukaisesti lämpökäsitelty testin lyysivaiheen aikana, ne saattavat muodostaa biologisen vaaratekijän, jolloin niitä EI saa asettaa 3M Molekylääriksen testi-instrumenttiin.
10. Poista peittämätön LS-putkiteline lämmityslahkosta ja anna sen viilentyä 3M Molekylääriksen testijäähdytyslohkon pistokkeessa vähintään 5 minuuttia ja enintään 10 minuuttia. 3M Molekylääriksen testijäähdytyslohkon pistoke, jota käytetään ympäristön lämpöisenä ilman Molekylääriksen testijäähdytyslohkon alustaa, asetetaan suoraan laboratorion työtasolle. Viileänä lyysiliuoksen väri palaa vaaleanpunaiseksi.



11. Poista LS-putkiteline 3M Molekyläärisen testijäähdytyslohkon pistokkeesta.



MONISTAMINEN

1. Kullekin näytteelle ja negatiiviselle kontrollille (NC) tarvitaan 1 näyttereagenssiputki.

1.1 Reagenssiputkiliuskat voidaan leikata haluttuun putkimäärään. Valitse tarvitsemasi yksittäisten reagenssiputkien tai 8 putken liuskoiden määrä.

1.2 Aseta reagenssiputket tyhjiin telineeseen.

1.3 Vältä liikuttamasta reagenssipellettejä putkien pohjalta.

2. Valitse 1 reagenssin valvontaputki (RC) ja aseta telineeseen.

3. Estä ristikontaminaatio poistamalla suojuus 1:stä reagenssiputkiliuskasta kerrallaan ja käyttämällä jokaiseen siirtoon uutta pipetinkärkeä.

4. Siirrä lysaatti reagenssiputkiin ja RC-putkeen noudattamalla seuraavia ohjeita:

Siirrä **ensin** jokainen näytelysaatti yksittäisiin reagenssiputkiin ja sen jälkeen negatiivinen kontrolli (NC). Kastele RC-putki **viimeiseksi**.

5. Käytä 3M™ Molekyläärisen testin cap/decap-työkalua - Reagenssi reagenssiputkien suojuksen avaamiseen. Avaa 1 reagenssiputkiliuska kerrallaan. Heitä suojuus pois.

5.1 Siirrä 20 µl näytelysaattia LS-putkesta vastaavaan reagenssiputkeen. Annostele kulmassa, jotta et liikuta pellettejä. Sekoita pipetoimalla varovasti ylös ja alas 5 kertaa.

5.2 Toista vaihe 5.1, kunnes yksittäinen näytelysaatti on lisätty vastaavaan reagenssiputkeen liuskassa.

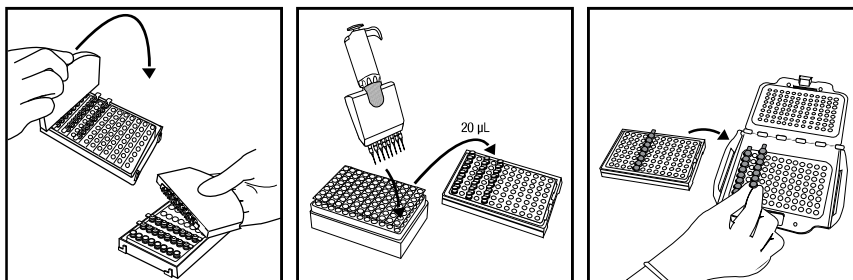
5.3 Peitä reagenssiputket mukana toimitetulla lisäsuojuksella ja varmista, että se on tiukasti paikoillaan painamalla sitä 3M Molekyläärisen testin cap/decap-työkalun - Reagenssi pyöristetyllä puolella eteen- ja taaksepäin suuntautuvalla liikkeellä.

5.4 Toista tarvittaessa vaihe 5.1 testattavien näytteiden määrän mukaan.

5.5 Kun olet siirtänyt kaikki näytelysaatit, siirrä 20 µl negatiivista kontrollilysaattia reagenssiputkeen toistamalla vaihe 4.1.

5.6 Siirrä **20 µl negatiivista kontrollilysaattia RC-putkeen**. Annostele kulmassa, jotta et liikuta pellettejä. Sekoita pipetoimalla varovasti ylös ja alas 5 kertaa.

6. Aseta suojuksella suljetut putket puhtaaseen ja steriloituun 3M Molekyläärisen testinopeuden latausalustaan. Sulje ja lukitse 3M Molekyläärisen testinopeuden latausalustan kansi.



7. Tarkasta ja vahvista määritetty ajo 3M Molekyläärisen testijärjestelmän ohjelmistossa.

8. Napsauta ohjelmiston Start (Käynnistä) -painiketta ja valitse käytettävä instrumentti. Valitun instrumentin kansi aukeaa automaattisesti.

9. Aseta 3M Molekyläärisen testinopeuden latausalusta 3M Molekylääriseen testi-instrumenttiin ja aloita testi sulkemalla kansi. Saat tulokset 75 minuutin kuluessa, positiiviset tulokset saatetaan kuitenkin havaita jo aikaisemmin.

10. Kun testi on suoritettu loppuun, ota 3M Molekyläärisen testinopeuden latausalusta 3M Molekyläärisestä testi-instrumentista ja hävitä putket liottamalla niitä 1–5 %:n (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuliuksella 1 tunnin ajan ja etäällä testin valmistelualueelta.

HUOMAUTUS: Jotta ristikontaminaation aiheuttamien väärin positiivisten riski olisi mahdollisimman pieni, älä koskaan avaa monistettua DNA:ta sisältäviä reagenssiputkia. Näihin lukeutuvat reagenssin valvonta-, reagenssi- ja matriisinhallintaputket. Hävitä tiiviisti suljetut reagenssiputket aina liottamalla niitä 1–5 %:n (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuliuksella 1 tunnin ajan ja etäällä testin valmistelualueelta.



TULOKSET JA TULKINTA

Algoritmi tulkitsee nukleiinihappojen monistuksen tunnistuksesta saatavaa valon sirontakäyrää. Ohjelmisto analysoi tulokset automaattisesti, ja tulokset värikoodataan tuloksen mukaan. Positiivinen tai negatiivinen tulos määritetään analysoimalla useita yksilöllisiä käyräparametreja. Oletetut positiiviset tulokset ilmoitetaan reaaliaikaisesti, kun taas negatiiviset ja tarkastettavat tulokset näytetään ajon valmistumisen jälkeen.

Oletetut positiiviset näytteet on vahvistettava laboratorion vakiotoimintamenettelyjen mukaisesti tai suorittamalla asianmukainen vahvistus vertailumenetelmällä^(1, 2, 3) alkaen siirrosta ensimmäisestä elatusjauherikastuksesta toiseen rikastukseen (soveltuvien osin). Tämän jälkeen seuraa pinnoitus ja isolaattien vahvistaminen asianmukaisia biokemiallisia ja serologisia menetelmiä käyttäen.

HUOMIO Myöskään negatiivinen näyte ei anna nollalukemaa, sillä järjestelmällä ja 3M Molekyläärinen testisetin 2 - *Listeria monocytogenes* monistusreagensseilla on "taustan" suhteellinen valoyksikkö (RLU).

Joissain harvoissa tapauksissa valon sironta voi olla epätavallinen, jolloin algoritmi merkitsee sen tarkastettavaksi ("Inspect"). 3M suosittelee testin uusimista tarkastettavaksi merkittyjen (Inspect) näytteiden osalta. Jos tulokseksi tulee jatkuvasti Inspect (Tarkasta), tee varmistustesti käyttämällä itse parhaaksi katsomaasi menetelmää tai paikallisten määräysten mukaista menetelmää.

Jos sinulla on jotain tiettyä sovellusta tai menetelmää koskevia kysymyksiä, käy verkkosivuillamme osoitteessa www.3M.com/foodsafety tai ota yhteyttä paikalliseen 3M-edustajaan tai -jälleenmyyjään.

VIITTEET:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

Appendix A. Protocol Interruption: Lämpökäsiteltyjen lisaattien säilyttäminen ja uudelleentestaus

1. Aseta lämpökäsitellylle lisaatille puhdas suojus (katso "Lyysi", 4.5).
2. Säilytä 4–8°C:ssa enintään 72 tuntia.
3. Valmistele säilytetty näyte monistamista varten kääntelemällä sitä 2–3 kertaa, jotta se sekoittuu.
4. Poista suojukset putkista.
5. Aseta sekoitetut lyysiputket 3M Molekyläärinen testilämpölohkoon pistokkeeseen ja kuumenna 100 ± 1 °C:ssa 5 ± 1 minuuttia.
6. Poista peittämätön LS-putkiteline lämmityslohkosta ja anna sen viilentyä 3M Molekyläärinen testijäähdytyslohkoon pistokkeessa vähintään 5 minuuttia ja enintään 10 minuuttia.
7. Jatka edellä olevasta kohdasta "Monistaminen".

TUOTEMERKKISYMBOLIEN SELITYKSET



Tärkeä varotoimi tai varoitus, katso tuoteseloste.



Katso tuoteseloste.



Pakkauksessa oleva erämerkintä osoittaa eränumeron.



Tiimalasin perään on merkitty kuukausi ja vuosi, jotka merkitsevät viimeistä käyttöpäivää.



Säilytyslämpötilarajoitukset.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Instruções do produto

Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 MDA2LM096

DESCRIÇÃO E FINALIDADE DO PRODUTO

O 3M™ Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 é utilizado com o 3M™ Sistema de Detecção Molecular para detecção rápida e específica de espécies de *Listeria* em amostras enriquecidas alimentares e ambientais.

Os 3M Ensaio para Detecção Molecular utilizam amplificação isotérmica mediada por ciclo para amplificar rapidamente sequências de ácidos nucleicos com alta especificidade e sensibilidade, combinadas com bioluminescência para detectar a amplificação. Os resultados positivos presumíveis são relatados em tempo real enquanto os resultados negativos são exibidos após o ensaio ter sido concluído. Os resultados positivos presumíveis devem ser confirmados através do seu método preferido ou conforme especificado pelos regulamentos locais ^(1, 2 e 3).

O 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 destina-se ao uso em ambiente laboratorial por profissionais treinados em técnicas laboratoriais. A 3M não documentou o uso deste produto em setores diferentes de alimentos e bebidas. Por exemplo, a 3M não documentou este produto para testar amostras de água, farmacêuticas, de cosméticos, clínicas ou veterinárias. O 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 não foi avaliado com todos os protocolos de teste possíveis ou todas as culturas de bactérias possíveis.

Como acontece em todos os métodos de teste, a fonte do meio de enriquecimento pode influenciar os resultados. A 3M avaliou o 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 com caldo Demi-Fraser contendo Citrato de Amônio Férrico. Uma formulação típica deste meio é listada abaixo.

Fórmula típica do Demi Fraser caldo base (g /L)

Cloreto de sódio	20 g
Fosfato de sódio, dibásico, anidrico*	9,6 g
Extrato de carne	5,0 g
Digestão pancreática de caseína	5,0 g
Digestão péptica de tecido animal	5,0 g
Extrato de levedura	5,0 g
Cloreto de lítio	3,0 g
Fosfato de potássio, monobásico	1,35 g
Esculina	1,0 g
Acriflavina de HCl	0,0125 g
Ácido nalidíxico	0,01 g
* Substituto: Fosfato de sódio, dibásico, desidratado	12,0 g

Suplemento de caldo Fraser

(Ingredientes por frasco de 10 mL. Um frasco é adicionado a um litro de meio de base.)

Citrato de Amônio Férrico	0,5 g /10 mL
---------------------------	--------------

pH final 7,2 ± 0,2 a 25°C

O 3M™ Equipamento de Detecção Molecular destina-se ao uso com amostras que passaram por tratamento térmico durante a etapa lise do ensaio, projetado para destruir organismos presentes na amostra. Amostras que não foram tratadas com aquecimento de forma adequada durante a etapa lise do ensaio, podem ser consideradas um risco biológico potencial e NÃO devem ser envolvidas no Equipamento de Detecção Molecular da 3M.

A 3M Food Safety é certificada pela ISO (International Organization for Standardization) 9001 para projeto e fabricação.

O kit de testes do 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 contém 96 testes, descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Componentes do Kit

Item	Identificação	Quantidade	Conteúdo	Comentários
Tubos de solução lise (LS)	Solução rosa em tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µL de LS por tubo	Armazenados na prateleira e prontos para o uso
Tubos de reagentes <i>Listeria monocytogenes</i>	Tubos amarelos	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mistura de detecção e amplificação específica liofilizada	Pronto para uso
Tampas adicionais	Tampas amarelas	96 (12 tiras de 8 tampas)		Pronto para uso
Controle de Reagentes (RC)	Tubos transparentes com tampa articulada	16 (2 pacotes de 8 tubos individuais)	Mistura de DNA de controle liofilizado, amplificação e detecção	Pronto para uso
Guia de início rápido		1		

O Controle Negativo, não fornecido no kit, é meio de enriquecimento estéril, por exemplo, caldo Demi-Fraser. Não utilize água como controle negativo.

SEGURANÇA

O usuário deve ler, compreender e seguir todas as informações de segurança presentes nas instruções do 3M Sistema de Detecção Molecular e do 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2. Guarde as instruções de segurança para consulta posterior.

⚠ AVISO: Indica uma situação de perigo que, se não evitada, pode resultar em morte ou ferimentos graves e /ou danos materiais.

⚠ ATENÇÃO: Indica uma situação de perigo que, se não evitada, pode resultar em ferimentos leves ou moderados e /ou danos materiais.

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

⚠ AVISO

Não utilize o 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 no diagnóstico de problemas de saúde em humanos e animais.

O método 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 pode gerar *Listeria monocytogenes* em níveis suficientes para causar morte fetal e outras fatalidades em mulheres grávidas e imunocomprometidos, se expostos.

O usuário deve treinar seu pessoal nas técnicas de testes apropriadas atuais: por exemplo, melhores práticas de laboratório, ISO 17025⁽⁴⁾ ou ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Siga o protocolo e realize os testes exatamente conforme especificado nas instruções do produto.
- Armazene o 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 conforme indicado nas instruções da embalagem e do produto.
- Sempre utilize o 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 até a data de validade.
- Utilize o 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 para amostras alimentares e ambientais que tenham sido validadas internamente ou por um terceiro.
- Utilize o 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 somente para superfícies, desinfetantes, protocolos e culturas de bactérias que tenham sido validadas internamente ou por um terceiro.
- Para uma amostra ambiental contendo Tampão Neutralizante com aril sulfonato complexo, efetue uma diluição de 1:2 antes de testar (1 parte da amostra em 1 parte do caldo de enriquecimento estéril). Produtos de manipulação de amostra da 3M™ que incluem o tampão neutralizante: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XLSL10NB, HS10NB e HS119510NB.

Para reduzir os riscos de exposição a produtos químicos e agentes nocivos biológicos:

- É altamente recomendável que as mulheres pertencentes à equipe do laboratório sejam informadas do risco existente para um feto em desenvolvimento resultante da infecção da mãe pela exposição à *Listeria monocytogenes*.
- Execute testes de agentes patogênicos em um laboratório adequadamente equipado, sob o controle de pessoal bem treinado.
- Sempre adote as práticas de segurança padrão em laboratórios, incluindo trajes de proteção adequados e óculos de proteção ao manipular reagentes e amostras contaminadas.
- Evite contato com o conteúdo do meio de enriquecimento e dos tubos de reagentes após a amplificação.
- Descarte amostras enriquecidas de acordo com as normas atuais setoriais.

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 normas atuais setoriais para o descarte de resíduos contaminados.

⚠ ATENÇÃO

- 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 3M™ Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular (por exemplo, um termômetro de imersão parcial ou termômetro termopar digital, não um termômetro de imersão total.) O termômetro deve ser colocado no local designado do 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular.

RECOMENDAÇÕES

Para reduzir os riscos de contaminação cruzada ao preparar o ensaio:

- Recomenda-se o uso de ponteiros de pipeta estéreis, com barreira aerossol (filtrados) e nível de biologia molecular.
- Utilize um novo ponteiro 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.

Para reduzir os riscos de um resultado falso-positivo:

- Nunca abra os tubos após a amplificação.
- Sempre descarte os tubos contaminados enxaguando-os em uma solução de alvejante doméstico de 1 a 5% (v:v em água) por 1 hora, longe da área de preparação de ensaio.

Consulte a Planilha de Dados de Segurança para obter informações adicionais e informações sobre os regulamentos locais para descarte.

Em caso de dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, visite nosso site em www.3M.com/foodsafety ou entre em contato com o seu representante ou distribuidor local da 3M.

LIMITAÇÕES DA GARANTIA

A 3M REJEITA TODOS OS TERMOS EXPRESSOS E IMPLÍCITOS DE GARANTIA, MAS SEM EXCLUSIVIDADE, QUAISQUER GARANTIAS DE COMERCIALIZAÇÃO OU DE ADEQUAÇÃO PARA UM DETERMINADO USO. Se ficar provado que qualquer produto da 3M Food Safety encontra-se defeituoso, a 3M ou seu distribuidor autorizado procederá, ao seu critério, à respectiva substituição ou restituição do dinheiro da compra do produto. Estes são os seus únicos termos de recurso. A 3M deverá ser prontamente notificada, dentro de sessenta dias da descoberta de qualquer defeito suspeito no produto e o mesmo deverá ser devolvido à 3M. Telefone para o Linha Aberta (0800-0132333) ou para o seu representante oficial da 3M Food Safety, a fim de obter uma Autorização de Devolução de Mercadoria.

LIMITAÇÕES DE RESPONSABILIDADE DA 3M

A 3M NÃO SERÁ RESPONSÁVEL POR QUAISQUER DANOS, SEJAM DIRETOS, INDIRETOS, ESPECIAIS, ACIDENTAIS OU SUBSEQÜENTES, INCLUINDO, MAS SEM EXCLUSIVIDADE, A PERDA DE LUCROS. Exceto quando for proibido por lei, em nenhuma circunstância nem ao abrigo seja de que teoria jurídica for, deverá a responsabilidade da 3M exceder o preço de compra dos produtos supostamente defeituosos.

RESPONSABILIDADE DO USUÁRIO

Os usuários são responsáveis por se familiarizar com as instruções e informações do produto. Visite nosso website em www.3M.com/foodsafety, ou contate o seu representante ou distribuidor 3M local para obter mais informações.

Ao selecionar qualquer método de teste, é importante considerar que fatores externos, como métodos de amostragem, protocolos de teste, preparo de amostras, manipulação e a técnica de laboratório utilizada, 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 os método escolhido satisfaça os critérios por ele estabelecidos.

Também é de responsabilidade do usuário determinar se o método de teste e os resultados satisfazem as exigências de seus clientes ou fornecedores.

Como em qualquer outro método, os resultados obtidos com qualquer produto da 3M Food Safety não constituem uma garantia da qualidade das matrizes ou processos com eles testados.

Para ajudar os clientes a avaliarem o método para diversas matrizes de alimentos, a 3M desenvolveu o kit 3M™ Controle de Matriz para Detecção Molecular. Quando necessário, utilize o Controle de Matriz (MC) para determinar se a matriz tem a capacidade de impactar os resultados do 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2. Teste diversas amostras representativas da matriz, isto é, amostras obtidas a partir de diferentes origens, durante qualquer período de validação quando adotar o método da 3M, ou quando testar matrizes novas ou desconhecidas ou matrizes que tiverem passado por mudanças de processo ou matéria-prima.

Uma matriz pode ser definida como um tipo de produto com propriedades intrínsecas, tais como composição e processo. As diferenças entre matrizes podem ser tão simples quanto os efeitos causados pelas diferenças em seu processamento ou apresentação, por exemplo, bruto vs. pasteurizado, fresco vs. seco, etc.

ARMAZENAMENTO E DESCARTE

Armazene o 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 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 abrir, os tubos de reagentes não utilizados devem sempre ser armazenados na embalagem que pode ser selada, 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 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 após a data de validade. 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 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 podem conter materiais patogênicos. Quando o teste estiver concluído, siga as normas atuais setoriais para o descarte de resíduos contaminados. Consulte a Planilha de Dados de Segurança para obter informações adicionais e informações sobre os regulamentos locais para descarte.

INSTRUÇÕES DE USO

Siga todas as instruções com atenção. Caso contrário, pode haver resultados imprecisos.

Periodicamente, descontamine as bancadas e os equipamentos do laboratório (pipetas, ferramentas de tampar /destampar, etc.) com uma solução de 1-5% (v:v em água) de água sanitária ou solução de remoção de DNA.

ENRIQUECIMENTO DE AMOSTRA

A Tabela 2 apresenta uma orientação para o enriquecimento de amostras alimentares e ambientais. É responsabilidade do usuário validar protocolos de amostragem ou taxas de diluição alternativos para garantir que este método de teste atenda aos critérios do usuário.

Alimentos

1. Deixe o meio de enriquecimento do caldo Demi-Fraser (inclui citrato de amônio férrico) equilibrar a temperatura ambiente de laboratório.
2. Combine asepticamente o meio de enriquecimento e a amostra de acordo com a Tabela 2. Para amostras de todos os tipos de carne e de substância altamente particuladas, recomenda-se o uso de sacos de filtragem.
3. Homogenize completamente misturando, usando Stomacher, ou misturando manualmente por $2 \pm 0,2$ minutos. Incube a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ de acordo com a Tabela 2.
4. Para os produtos lácteos brutos, transferir 0,1 mL de enriquecimento primário em 10 mL de caldo Fraser. Incube a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 20-24 horas.

Amostras ambientais

Os dispositivos de coleta de amostras podem ser uma esponja hidratada com uma solução neutralizadora para desativar os efeitos dos desinfetantes. A 3M recomenda o uso de uma esponja de celulose livre de biocidas. A solução neutralizadora pode ser o caldo neutralizador Dey-Engley (D/E) ou caldo Lethen. É recomendável que a área seja desinfetada após a amostragem.

AVISO: Caso escolha utilizar tampão neutralizador (Neutralizing Buffer - NB) que contém complexos de sulfonato de arila como a solução hidratante para a esponja, então 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.

O tamanho recomendado da área de amostragem para verificar a presença ou ausência do agente patogênico na superfície é de pelo menos 100 cm (10 cm x 10 cm ou 4" x 4")². Ao coletar amostras com uma esponja, abranja toda a área indo em duas direções (da esquerda para a direita e de cima para baixo) ou colete amostras ambientais seguindo seu protocolo de amostragem atual ou de acordo com as diretrizes FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ ou ISO 18593⁽⁶⁾.

1. Deixe o meio de enriquecimento do caldo Demi-Fraser (inclui citrato de amônio férrico) equilibrar a temperatura ambiente de laboratório.
2. Assepticamente combine o meio de enriquecimento e a amostra, de acordo com a Tabela 2.
3. Homogenize completamente misturando, usando Stomacher, ou misturando manualmente por $2 \pm 0,2$ minutos. Incube a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24-30 horas.

Tabela 2: Protocolos de enriquecimento usando enriquecimento com caldo Demi-Fraser

Matriz de amostra	Tamanho da amostra	Volume do caldo de enriquecimento (mL)	Temperatura de enriquecimento (°C)	Tempo de enriquecimento (h)				
Carnes curadas, aves, frutos do mar e peixes cozidos /tratados termicamente Produtos lácteos pasteurizados / tratados termicamente Produção e legumes Alimentos com múltiplos componentes	25 g	225	37	24-30				
Amostras ambientais	1 esponja	100 ou 225	37	24-30				
	1 cotonete	10	37	24-30				
Carne crua, aves, frutos do mar e peixes	25 g	475	37	28-32				
Matriz de amostra	Enriquecimento primário (Caldo Demi-Fraser)				Enriquecimento secundário (Caldo Fraser)			Volume da análise da amostra ^(a)
	Tamanho da amostra	Volume do caldo de enriquecimento (mL)	Temperatura de enriquecimento (°C)	Tempo de enriquecimento (h)	Tamanho da amostra	Temperatura de enriquecimento (°C)	Tempo de enriquecimento (h)	
Produtos lácteos crus	25 g	225	37	20-24	Transferir 0,1 mL em 10 mL de caldo Fraser	37	20-24	10 µL

(a) Volume da amostra transferido para tubos de solução lise. Consulte a Etapa 4,6 da seção Lise.

PREPARAÇÃO DA 3M™ 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 3M™ Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular.
2. Enxágue a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular com água.
3. Utilize uma toalha descartável para secar a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular.
4. Certifique-se de que a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular esteja seca antes de utilizá-la.

PREPARAÇÃO DO 3M™ BLOCO DE RESFRIAMENTO PARA DETECÇÃO MOLECULAR

Coloque o 3M™ Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular diretamente sobre a bancada do laboratório; (a 3M™ Bandeja do Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular não é utilizada). Utilize o bloco de resfriamento a temperatura ambiente do laboratório (de 20 a 25°C).

PREPARAÇÃO DO 3M™ BLOCO DE AQUECIMENTO PARA DETECÇÃO MOLECULAR

Coloque o 3M™ Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular em uma unidade de aquecimento com bloco seco. Ligue a unidade de aquecimento de bloco a seco e defina a temperatura para permitir que o 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular alcance e mantenha a temperatura de $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

NOTA: Dependendo da unidade de aquecimento, aguarde aproximadamente 30 minutos até que o 3M 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 designado, verifique se o 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular está a $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

PREPARAÇÃO DO 3M™ EQUIPAMENTO DE DETECÇÃO MOLECULAR

1. Inicie o 3M™ Software do Sistema de Detecção Molecular e efetue login.
2. Ligue o Equipamento de Detecção Molecular da 3M.
3. Crie ou edite uma execução com dados para cada amostra. Consulte o Manual do Usuário do 3M Sistema de Detecção Molecular para obter mais detalhes.

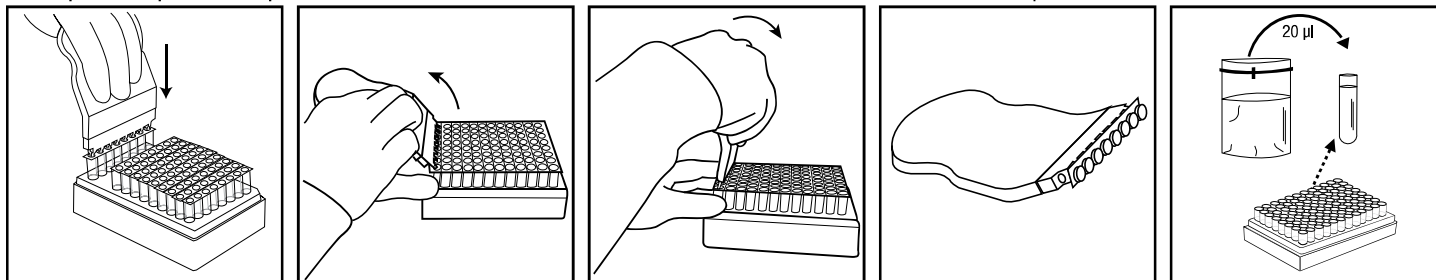
NOTA: O Equipamento de Detecção Molecular da 3M deve atingir e manter a temperatura de 60°C antes de inserir a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular com os tubos de reação. Esta etapa de aquecimento leva aproximadamente 20 minutos e é indicada por uma luz LARANJA na barra de status do instrumento. Quando o equipamento estiver pronto para iniciar uma execução, a barra de status ficará VERDE.

LISE

1. Deixe os tubos da solução de lise (LS) aquecerem configurando o suporte à temperatura ambiente (de 20 a 25°C) durante a noite (de 16 a 18 horas). Alternativas para equilibrar os tubos LS à temperatura ambiente são posicionar os tubos LS na bancada do laboratório durante pelo menos 2 horas, incubar os tubos LS em uma incubadora de $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 1 hora ou colocá-los em um aquecedor de bloqueio duplo seco por 30 segundos a 100°C .
2. Inverta os tubos tampados para misturar até 4 horas antes do uso.
3. Remova o caldo de enriquecimento da incubadora.
4. É necessário um tubo LS para cada amostra e a amostra de controle negativo (CN) (meio de enriquecimento estéril).
 - 4.1 Podem ser cortadas tantas tiras para tubos LS quantas forem desejáveis, de acordo com o número de tubos LS. Selecione o número de tiras individuais e para conjunto de 8 tubos necessárias para os tubos LS. Coloque os tubos LS em uma prateleira vazia.
 - 4.2 Para evitar contaminação, destampe uma tira de tubo LS de cada vez e utilize um novo ponteiro de pipeta para cada etapa da transferência.
 - 4.3 Transfira a amostra enriquecida para os tubos LS conforme descrito abaixo:

Primeiro transfira cada amostra enriquecida para tubos LS individuais. Por último, transfira o CN.

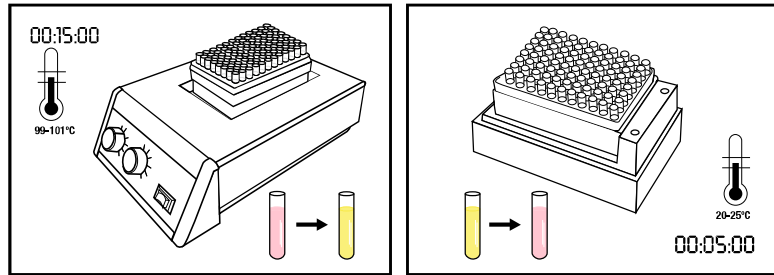
- 4.4 Utilize a 3M™ Ferramenta de Tampar /Destampar para Detecção Molecular - Lise para destampar uma tira de tubo LS – uma tira de cada vez.
- 4.5 Descarte a tampa do tubo LS – se o lisado for mantido para novo teste, coloque as tampas em um recipiente limpo para reutilização após a lise. Para processamento do lisado mantido, consulte o Apêndice A.
- 4.6 Transfira 20 uL de amostra para um tubo LS, a menos que indicado de outra forma na tabela do protocolo.
5. Repita a etapa 4.2 até que todas as amostras individuais tenham sido adicionadas a um tubo LS correspondente na tira.



6. Repita as etapas 4.1 a 4.6, conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas.
7. Quando todas as amostras tiverem sido transferidas, transfira 20 uL de CN (meio de enriquecimento estéril, por exemplo, caldo Demi-Fraser) para um tubo LS. Não utilize água como CN.
8. Verifique se a temperatura do 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular está a $100 \pm 1^\circ\text{C}$.
9. Coloque a prateleira descoberta de tubos LS no 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular e aqueça por 15 ± 1 minutos. Durante o aquecimento, a solução LS irá mudar de cor de rosa (frio) para amarelo (quente).

Amostras que não foram tratadas com aquecimento de forma adequada durante a etapa lise do ensaio, podem ser consideradas um risco biológico potencial e NÃO devem ser envolvidas no Equipamento de Detecção Molecular da 3M.

10. Retire o suporte descoberto de tubos LS do bloco de aquecimento e deixe esfriar no 3M Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular por pelo menos 5 minutos (e no máximo 10 minutos). O 3M Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular, usado em temperatura ambiente sem a Bandeja do Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular, deve ser colocado diretamente sobre a bancada do laboratório. Quando resfriada, a solução de lise voltará à cor rosa.
11. Retire o suporte de tubos LS do 3M Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular.

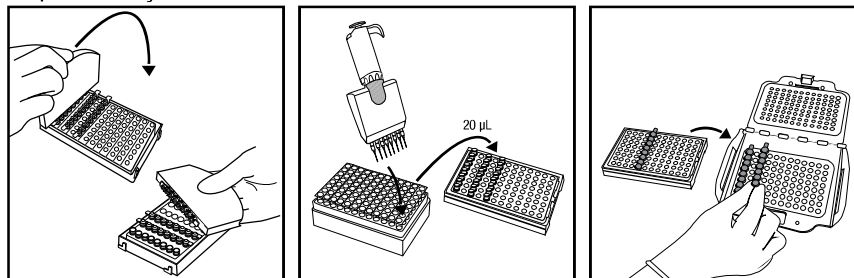


AMPLIFICAÇÃO

1. É necessário um tubo de reagente para cada amostra e para o NC.
 - 1.1 Podem ser cortadas tantas tiras para tubos de reagente quantas forem desejáveis, de acordo com o número de tubos. Selecione o número de tubos de reagente individuais ou tiras de 8 tubos necessários.
 - 1.2 Coloque os tubos de reagentes em uma prateleira vazia.
 - 1.3 Evite agitar os granulados reagentes da parte inferior dos tubos.
2. Selecione 1 tubo de Controle de Reagentes (RC) e coloque na prateleira.
3. Para evitar contaminação, destampe uma tira de tubo de reagentes de cada vez e utilize um novo ponteiro de pipeta para cada etapa da transferência.
4. Transfira o lisado aos tubos de reagentes e ao tubo RC, conforme descrito abaixo:

Primeiro, transfira cada lisado da amostra para dentro de tubos de reagentes individuais, **seguido pelo NC**. Por **último**, hidrate o tubo RC.

5. Utilize a 3M™ Ferramenta de Tampar /Destampar para Detecção Molecular - Reagente para destampar os tubos de reagentes – uma tira de tubos de reagente de cada vez. Descarte a tampa.
 - 5.1 Transfira 20 µL de lisado de amostra do tubo LS para o tubo reagente correspondente. Distribua de forma a evita a agitação dos granulados. Misture inserindo e retirando a pipeta de forma suave 5 vezes.
 - 5.2 Repita a etapa 5.1 até que todos os lisados das amostras individuais tenham sido adicionados a um tubo de reagente correspondente na tira.
 - 5.3 Cubra os tubos de reagente com as tampas adicionais fornecidas e utilize o lado arredondado da 3M Ferramenta de Tampar /Destampar para Detecção Molecular - Reagente para apertar com um movimento de vai e vem, garantindo que a tampa fique bem justa.
 - 5.4 Repita a etapa 5.1, conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas.
 - 5.5 Quando todos os lisados de amostra tiverem sido transferidos, repita a etapa 4.1 para transferir 20 µL de lisado NC para um tubo de reagente.
 - 5.6 Transfira **20 µL de lisado do CN para um tubo RC**. Distribua de forma a evita a agitação dos granulados. Misture inserindo e retirando a pipeta de forma suave 5 vezes.
6. Carregue os tubos tampados em uma 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular limpa e descontaminada. Feche e trave a tampa da 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular.



7. Analise e confirme a execução configurada no 3M Software do Sistema de Detecção Molecular.
8. Clique no botão iniciar do software e selecione o instrumento a utilizar. A tampa do instrumento selecionado abre automaticamente.
9. Posicione a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular no Equipamento de Detecção Molecular da 3M e feche a tampa para iniciar o ensaio. Os resultados são fornecidos em 75 minutos, embora os positivos possam ser detectados mais cedo.
10. Depois que o ensaio estiver concluído, remova a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular do Equipamento de Detecção Molecular da 3M 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.

RECOMENDAÇÃO: Para minimizar o risco de falso-positivo devido à contaminação, nunca abra tubos reagentes que contenham DNA amplificado. Isto inclui tubos de Controle de Reagentes, tubos de Reagente e 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 nucléico. 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 de curvas. Resultados positivos presumíveis são reportados em tempo real, enquanto resultados negativos e a inspecionar serão exibidos após a conclusão da execução.

Amostras positivas presumíveis devem ser confirmadas conforme os procedimentos operacionais padrão de laboratórios, ou seguindo o método de confirmação de referência apropriado ^(1, 2, 3), começando com a transferência do caldo de enriquecimento primário para o caldo de enriquecimento secundário (se aplicável), seguido por plaqueamento e confirmação posterior de amostras isoladas utilizando métodos bioquímicos e sorológicos apropriados.

NOTA: Até mesmo uma amostra negativa não resultará em leitura zero, uma vez que o sistema e os reagentes de amplificação do 3M Ensaio para Detecção Molecular de *Listeria monocytogenes* 2 têm uma unidade de luz relativa (RLU) em "segundo plano".

Em casos raros de saída de luz incomum, o algoritmo rotula o caso como "Inspecionar". A 3M recomenda que o usuário repita o ensaio para qualquer amostra a inspecionar. Se o resultado continuar a ser Inspecionar, proceda o teste de confirmação utilizando seu método preferencial ou conforme especificado pelos regulamentos locais

Em caso de dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, visite nosso site em www.3M.com/foodsafety ou entre em contato com o seu representante ou distribuidor local da 3M.

REFERÊNCIAS:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO /IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

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

1. Para armazenar um ligado tratado termicamente, tampe novamente o tubo de lise com uma tampa limpa (consulte a seção "Lise", 4.5).
2. Armazene à temperatura de 4 a 8°C por até 72 horas.
3. Prepare uma amostra armazenada para amplificação invertendo de 2 a 3 vezes para misturar.
4. Destampe os tubos.
5. Coloque os tubos de lisado misturados no 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular e aqueça a $100 \pm 1^\circ\text{C}$ por 5 ± 1 minutos.
6. Retire o suporte descoberto de tubos LS do bloco de aquecimento e deixe esfriar no 3M Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular por pelo menos 5 minutos (e no máximo 10 minutos).
7. Continue o protocolo na seção 'Amplificação', descrita acima.

EXPLICAÇÕES DOS EXEMPLOS DE ETIQUETAS DE PRODUTOS



Atenção ou Aviso, veja as instruções do produto.



Consulte as instruções do produto.



O lote em uma caixa representa o número do lote.



A ampulheta é seguida por um mês e um ano que representam a data de validade.



Limites da temperatura de armazenamento.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss /Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Πληροφορίες προϊόντος

Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2

MDA2LM096

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΚΑΙ ΣΚΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Η 3M™ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 χρησιμοποιείται με το 3M™ Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης για τη γρήγορη και ειδική ανίχνευση του είδους *Listeria* σε εμπλουτισμένα δείγματα τροφίμων και περιβαλλοντικά δείγματα.

Οι 3M Δοκιμασίες Μοριακής Ανίχνευσης χρησιμοποιούν ισοθερμική ενίσχυση με μεσολάβηση βρόχου για τη γρήγορη ενίσχυση αλληλουχιών νουκλεϊνικών οξέων με υψηλή ειδικότητα και ευαισθησία, σε συνδυασμό με βιοφωταύγεια για την ανίχνευση της ενίσχυσης. Τα υποθετικά θετικά αποτελέσματα αναφέρονται σε πραγματικό χρόνο, ενώ τα αρνητικά αποτελέσματα εμφανίζονται μετά την ολοκλήρωση της δοκιμασίας. Τα υποθετικά θετικά αποτελέσματα πρέπει να επιβεβαιώνονται χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που προτιμάτε ή όπως καθορίζεται από τους τοπικούς κανονισμούς^(1, 2, 3).

Η 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 προορίζεται για χρήση σε εργαστηριακό περιβάλλον από επαγγελματίες εκπαιδευμένους στις εργαστηριακές τεχνικές. Η 3M δεν έχει τεκμηριώσει τη χρήση αυτού του προϊόντος σε βιομηχανίες άλλες από εκείνες των τροφίμων και ποτών. Για παράδειγμα, η 3M δεν έχει τεκμηριώσει αυτό το προϊόν για τον έλεγχο δειγμάτων νερού, φαρμακευτικών προϊόντων, καλλυντικών, κλινικών ή κτηνιατρικών δειγμάτων. Η 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 δεν έχει αξιολογηθεί με όλα τα πιθανά πρωτόκολλα ελέγχου ή με όλα τα πιθανά βακτηριακά στελέχη.

Όπως και με όλες τις δοκιμαστικές μεθόδους, η πηγή του μέσου εμπλουτισμού μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα. Η 3M έχει αξιολογήσει την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 με Ζωμό Demi Fraser που περιέχει εναμμώσιο κιτρικό σίδηρο. Ένα τυπικό παρασκεύασμα αυτού του μέσου ακολουθεί παρακάτω.

Τυπική σύνθεση Βάσης Ζωμού Demi Fraser (g/L)

Χλωριούχο νάτριο	20 g
Φωσφορικό νάτριο, διβασικό, άνυδρο*	9,6 g
Βόειο εκχύλισμα	5,0 g
Παγκρεατική πέψη καζέϊνης	5,0 g
Γαστρική πέψη ζωικού ιστού	5,0 g
Εκχύλισμα ζυμομυκήτων	5,0 g
Χλωριούχο λίθιο	3,0 g
Φωσφορικό κάλιο, μονοβασικό	1,35 g
Εσκουλίνη	1,0 g
Ακριφλαβίνη υδροχλωρική	0,0125 g
Ναλιδιξικό οξύ	0,01 g
* Υποκατάστατο: Φωσφορικό νάτριο, διβασικό, διένυδρο	12,0 g

Συμπλήρωμα Ζωμού Fraser

(Συστατικά ανά φιαλίδιο των 10 mL. Ένα φιαλίδιο προστίθεται σε ένα λίτρο βασικού μέσου.)

Εναμμώσιος κιτρικός σίδηρος 0,5 g/10 mL

Τελικό pH 7,2 ± 0,2 στους 25 °C

Το 3M™ Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης προορίζεται για χρήση με δείγματα που έχουν υποβληθεί σε θερμική κατεργασία κατά τη διάρκεια του βήματος λύσης της δοκιμασίας, το οποίο είναι σχεδιασμένο για την καταστροφή των οργανισμών που είναι παρόντες στο δείγμα. Δείγματα που δεν έχουν υποβληθεί στην κατάλληλη θερμική κατεργασία κατά τη διάρκεια του βήματος λύσης της δοκιμασίας μπορούν να θεωρηθούν ως πιθανός βιολογικός κίνδυνος και ΔΕΝ πρέπει να εισάγονται στο 3M Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης.

Η 3M Food Safety είναι πιστοποιημένη κατά το πρότυπο του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO) 9001 για σχέδιο και κατασκευή.

Το κιτ ελέγχου 3M Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 περιέχει 96 δοκιμές που περιγράφονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Συστατικά του κιτ

Είδος	Αναγνώριση	Ποσότητα	Περιεχόμενα	Σχόλια
Δοκιμαστικοί σωλήνες Λύσης (ΛΣ)	Ροζ διάλυμα σε διαφανείς δοκιμαστικούς σωλήνες	96 (12 ταινίες των 8 δοκιμαστικών σωλήνων)	580 μL ΛΣ ανά δοκιμαστικό σωλήνα	Σε στατώ και έτοιμοι προς χρήση
<i>Listeria monocytogenes</i> Δοκιμαστικοί σωλήνες αντιδραστηρίου	Κίτρινοι δοκιμαστικοί σωλήνες	96 (12 ταινίες των 8 δοκιμαστικών σωλήνων)	Λυοφιλοποιημένο ειδικό μίγμα ενίσχυσης και ανίχνευσης	Έτοιμο προς χρήση
Επιπλέον πώματα	Κίτρινα πώματα	96 (12 ταινίες των 8 πωμάτων)		Έτοιμο προς χρήση
Έλεγχος Αντιδραστηρίου (ΕΑ)	Διαφανείς δοκιμαστικοί σωλήνες με αρθρωτό πώμα	16 (2 σακουλάκια των 8 ατομικών δοκιμαστικών σωλήνων)	Λυοφιλοποιημένος έλεγχος DNA, μίγμα ενίσχυσης και ανίχνευσης	Έτοιμο προς χρήση
Σύντομος Οδηγός Εκκίνησης		1		

Ο Αρνητικός Έλεγχος, που δεν παρέχεται στο κιτ, είναι στείρο μέσο εμπλουτισμού, π.χ. Ζωμός Demi Fraser. Μη χρησιμοποιείτε νερό ως Αρνητικό Έλεγχο.

ΑΣΦΑΛΕΙΑ

Ο χρήστης πρέπει να διαβάσει, κατανοήσει και ακολουθήσει όλες τις πληροφορίες ασφαλείας στις οδηγίες για το 3Μ Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης και την 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2. Φυλάξτε τις οδηγίες ασφαλείας για μελλοντική αναφορά.

⚠ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Υποδεικνύει μια επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα θάνατο ή σοβαρό τραυματισμό ή/και καταστροφή ιδιοκτησίας.

⚠ ΠΡΟΣΟΧΗ: Υποδεικνύει μια επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μικρό ή μέτριο τραυματισμό ή/και καταστροφή ιδιοκτησίας.

ΥΠΟΔΕΙΞΗ: Υποδεικνύει μια δυνητικά επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα καταστροφή ιδιοκτησίας.

⚠ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Μη χρησιμοποιείτε την 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 για τη διάγνωση καταστάσεων σε ανθρώπους ή ζώα.

Η μέθοδος 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 μπορεί να παράγει *Listeria monocytogenes* σε επίπεδα επαρκή για να προκαλέσουν θνησιγένειες και θανάτους σε έγκυες γυναίκες και σε ανοσοκατασταλμένα άτομα, εάν εκτεθούν.

Ο χρήστης πρέπει να εκπαιδεύσει το προσωπικό του στις τρέχουσες κατάλληλες τεχνικές ελέγχου: για παράδειγμα, Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές, ISO 17025⁽⁴⁾ ή ISO 7218⁽⁵⁾.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ένα ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα που οδηγεί στην αποδέσμευση μολυσμένου προϊόντος:

- Ακολουθείτε το πρωτόκολλο και διενεργείτε τους ελέγχους ακριβώς όπως περιγράφεται στις οδηγίες του προϊόντος.
- Φυλάσσετε την 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 όπως υποδεικνύεται στη συσκευασία και στις οδηγίες του προϊόντος.
- Χρησιμοποιείτε πάντοτε την 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 μέχρι την ημερομηνία λήξης.
- Χρησιμοποιείτε την 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 μόνο με περιβαλλοντικά δείγματα που έχουν επικυρωθεί εσωτερικά ή από τρίτο μέρος.
- Χρησιμοποιείτε την 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 μόνο με επιφάνειες, αποστειρωτικά, πρωτόκολλα και βακτηριακά στελέχη που έχουν επικυρωθεί εσωτερικά ή από τρίτο μέρος.
- Για ένα περιβαλλοντικό δείγμα που περιέχει Ουδετεροποιητικό Ρυθμιστικό Διάλυμα με αρυλ-σουλφονικό σύμπλοκο, πραγματοποιήστε αραιώση 1:2 πριν τον έλεγχο (1 μέρος δείγματος σε 1 μέρος στείρου ζωμού εμπλουτισμού). Προϊόντα χειρισμού δειγμάτων της 3Μ™ που περιέχουν Ουδετεροποιητικό Ρυθμιστικό Διάλυμα: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XLSL10NB, HS10NB και HS119510NB.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με την έκθεση σε χημικές ουσίες και τους βιολογικούς κινδύνους:

- Συνιστάται θερμά να ενημερώνεται το γυναικείο εργαστηριακό προσωπικό σχετικά με τον κίνδυνο σε ένα αναπτυσσόμενο έμβρυο που προκύπτει από λοίμωξη της μητέρας μέσω έκθεσης σε *Listeria monocytogenes*.
- Διενεργείτε τον έλεγχο παθογόνων σε κατάλληλα εξοπλισμένο εργαστήριο υπό τον έλεγχο εκπαιδευμένου προσωπικού.
- Τηρείτε πάντοτε τις τυπικές πρακτικές εργαστηριακής ασφάλειας, όπως χρήση κατάλληλης προστατευτικής ενδυμασίας και προστασίας ματιών, όταν χειρίζεστε αντιδραστήρια και μολυσμένα δείγματα.
- Αποφεύγετε την επαφή με τα περιεχόμενα των μέσων εμπλουτισμού και με τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστήριου μετά την ενίσχυση.
- Απορρίπτετε τα εμπλουτισμένα δείγματα σύμφωνα με τα τρέχοντα βιομηχανικά πρότυπα.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με διασταυρούμενη μόλυνση κατά την προετοιμασία της δοκιμασίας:

- Φοράτε πάντοτε γάντια (για την προστασία του χρήστη και την πρόληψη εισαγωγής νοκυλεσών).

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με περιβαλλοντική μόλυνση:

- Τηρείτε τα τρέχοντα βιομηχανικά πρότυπα για την απόρριψη μολυσμένων αποβλήτων.

⚠ ΠΡΟΣΟΧΗ

- Μην υπερβαίνετε τη συνιστώμενη ρύθμιση θερμοκρασίας στο θερμαντήρα.
- Μην υπερβαίνετε το συνιστώμενο χρόνο θέρμανσης.
- Χρησιμοποιείτε ένα κατάλληλο, βαθμονομημένο θερμόμετρο για να επαληθεύσετε τη θερμοκρασία του 3Μ™ Ένθετου για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρος Μοριακής Ανίχνευσης (π.χ. θερμόμετρο μερικής εμβύθισης ή ψηφιακό θερμόμετρο θερμοζεύγους, όχι θερμόμετρο ολικής εμβύθισης.) Το θερμόμετρο πρέπει να τοποθετείται στην προβλεπόμενη θέση στο 3Μ Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης.

ΥΠΟΔΕΙΞΗ

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με διασταυρούμενη μόλυνση κατά την προετοιμασία της δοκιμασίας:

- Συνιστάται να χρησιμοποιούνται αποστειρωμένα, με φραγμό για αερολύματα (με φίλτρο), ρύγχη πιπέτας κατηγορίας μοριακής βιολογίας.
- Χρησιμοποιείτε νέο ρύγχος πιπέτας για κάθε μεταφορά δείγματος.
- Χρησιμοποιείτε Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές για τη μεταφορά του δείγματος από το δοκιμαστικό σωλήνα εμπλουτισμού στο δοκιμαστικό σωλήνα λύσης. Για να αποφευχθεί η μόλυνση της πιπέτας, ο χρήστης μπορεί να επιλέξει να προσθέσει ένα ενδιάμεσο βήμα μεταφοράς. Για παράδειγμα, ο χρήστης μπορεί να μεταφέρει κάθε εμπλουτισμένο δείγμα μέσα σε έναν αποστειρωμένο δοκιμαστικό σωλήνα.
- Χρησιμοποιείτε σταθμό εργασίας μοριακής βιολογίας που να περιέχει μικροβιοκτόνο λυχνία, όπου είναι διαθέσιμη.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ψευδώς θετικό αποτέλεσμα:

- Μην ανοίγετε ποτέ τους δοκιμαστικούς σωλήνες μετά την ενίσχυση.
- Απορρίπτετε πάντοτε τους μολυσμένους δοκιμαστικούς σωλήνες μουλιάζοντάς τους σε διάλυμα οικιακού λευκαντικού 1–5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) για 1 ώρα και μακριά από την περιοχή προετοιμασίας της δοκιμασίας.

Συμβουλευθείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για πρόσθετες πληροφορίες και τοπικούς κανονισμούς σχετικά με την απόρριψη.

Εάν έχετε ερωτήσεις σχετικά με συγκεκριμένες εφαρμογές ή διαδικασίες, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη διεύθυνση www.3M.com/foodsafety ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της 3Μ.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΓΓΥΗΣΕΩΝ / ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

ΕΚΤΟΣ ΕΑΝ ΔΗΛΩΝΕΤΑΙ ΡΗΤΑ ΣΕ ΜΙΑ ΕΝΟΤΗΤΑ ΓΙΑ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗ ΕΓΓΥΗΣΗ ΣΤΗΝ ΑΤΟΜΙΚΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ, Η 3Μ ΑΠΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΡΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΝΝΟΟΥΜΕΝΕΣ ΕΓΓΥΗΣΕΙΣ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΟΠΟΙΩΝΔΗΠΟΤΕ ΕΓΓΥΗΣΕΩΝ ΕΜΠΟΡΕΥΣΙΜΟΤΗΤΑΣ Ή ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ.

Εάν οποιοδήποτε προϊόν 3M Food Safety είναι ελαττωματικό, η 3Μ ή ο εξουσιοδοτημένος διανομέας της, κατά την κρίση τους, θα αντικαταστήσουν ή επιστρέψουν την τιμή αγοράς του προϊόντος. Αυτές είναι οι αποκλειστικές σας αποκαταστάσεις. Πρέπει άμεσα και εντός εξήντα ημερών να γνωστοποιήσετε στην 3Μ την ανακάλυψη των πιθανολογούμενων ελαττωμάτων του προϊόντος και να επιστρέψετε το προϊόν στην 3Μ. Παρακαλούμε καλέστε την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών (010-6885300 στην Ελλάδα) ή τον επίσημο αντιπρόσωπο Ασφάλειας Τροφίμων της 3Μ για την Έγκριση Επιστροφής Προϊόντων.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΥΘΥΝΗΣ 3Μ

Η 3Μ ΔΕΝ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΟΠΟΙΑΔΗΠΟΤΕ ΑΠΩΛΕΙΑ Ή ΖΗΜΙΑ, ΕΙΤΕ ΑΜΕΣΗ, ΕΜΜΕΣΗ, ΕΙΔΙΚΗ, ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗ Ή ΑΠΟΘΕΤΙΚΗ ΖΗΜΙΑ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ, ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΔΙΑΦΥΓΟΝΤΩΝ ΚΕΡΔΩΝ. Η ευθύνη της 3Μ δεν υπερβαίνει σε καμία περίπτωση και υπό καμία νομική θεωρία την τιμή αγοράς του προϊόντος που εικάζεται ότι είναι Ελαττωματικό.

ΕΥΘΥΝΗ ΤΟΥ ΧΡΗΣΤΗ

Οι χρήστες είναι υπεύθυνοι να εξοικειωθούν με τις οδηγίες και τις πληροφορίες του προϊόντος. Επισκεφθείτε την ιστοσελίδα μας στη διεύθυνση www.3M.com/foodsafety, ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της 3Μ για περισσότερες πληροφορίες.

Κατά την επιλογή μίας μεθόδου ελέγχου, είναι σημαντικό να αναγνωρίζετε ότι οι εξωτερικοί παράγοντες, όπως μέθοδοι δειγματοληψίας, πρωτόκολλα ελέγχου, προετοιμασία και χειρισμός δειγμάτων και η εργαστηριακή τεχνική μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να επιλέξει οποιαδήποτε μέθοδο ή προϊόν ελέγχου, για να αξιολογήσει έναν επαρκή αριθμό δειγμάτων με τις κατάλληλες μήτρες και μικροβιακές προκλήσεις, ώστε η επιλεγμένη μέθοδος να ικανοποιεί τα κριτήρια του χρήστη.

Αποτελεί επίσης ευθύνη του χρήστη να καθορίσει ότι όλες οι μέθοδοι δοκιμής και τα αποτελέσματα ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις των πελατών και των προμηθευτών του.

Όπως και με κάθε μέθοδο ελέγχου, τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από τη χρήση οποιουδήποτε προϊόντος 3M Food Safety δεν συνιστούν εγγύηση της ποιότητας των μητρώων ή των διαδικασιών που υποβάλλονται σε έλεγχο.

Για να βοηθήσει τους πελάτες να αξιολογήσουν τη μέθοδο για τις διάφορες μήτρες τροφίμων, η 3Μ έχει αναπτύξει το κιτ 3M™ Πίνακα Ελέγχου Μοριακής Ανίχνευσης. Όταν χρειάζεται, χρησιμοποιήστε τον Πίνακα Ελέγχου (MC) για να προσδιορίσετε εάν η μήτρα έχει τη δυνατότητα να επηρεάσει τα αποτελέσματα από την 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2. Ελέγξτε διάφορα δείγματα που είναι αντιπροσωπευτικά της μήτρας, δηλ. δείγματα που λαμβάνονται από διαφορετική προέλευση, κατά τη διάρκεια οποιασδήποτε περιόδου επικύρωσης όταν υιοθετείτε τη μέθοδο της 3Μ ή όταν ελέγχετε νέες ή άγνωστες μήτρες ή μήτρες που έχουν υποβληθεί σε αλλαγές στις πρώτες ύλες ή στην επεξεργασία.

Μια μήτρα μπορεί να οριστεί ως ένας τύπος προϊόντος με ενδογενείς ιδιότητες όπως σύνθεση και επεξεργασία. Οι διαφορές μεταξύ των μητρώων μπορεί να είναι απλές, όπως οι επιδράσεις που προκαλούνται από διαφορές στην επεξεργασία ή στην παρουσίασή τους, για παράδειγμα, ακατέργαστο έναντι παστεριωμένου, φρέσκο έναντι αποξηραμένου κτλ.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΡΡΙΨΗ

Φυλάσσετε την 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 στους 2–8 °C. Να μην καταψύχεται. Αποφεύγετε την έκθεση του κιτ στο φως κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Αφού ανοίξετε το κιτ, ελέγξτε ότι το αλουμινένιο σακουλάκι είναι άθικτο. Εάν το αλουμινένιο σακουλάκι έχει υποστεί ζημιά, μη χρησιμοποιήσετε το προϊόν. Μετά το άνοιγμα, οι χρησιμοποιημένοι δοκιμαστικοί σωλήνες αντιδραστηρίων πρέπει πάντοτε να φυλάσσονται στο επανασφραγιζόμενο σακουλάκι με το αφυγραντικό μέσο, ώστε να διατηρείται η σταθερότητα των λυοφιλοποιημένων αντιδραστηρίων. Φυλάσσετε τα επανασφραγισμένα σακουλάκια στους 2–8 °C για χρονικό διάστημα όχι μεγαλύτερο από 60 ημέρες.

Μη χρησιμοποιείτε την 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 μετά την ημερομηνία λήξης. Η ημερομηνία λήξης και ο αριθμός παρτίδας επισημαίνονται στην εξωτερική ετικέτα του κουτιού. Μετά τη χρήση, το μέσο εμπλουτισμού και οι δοκιμαστικοί σωλήνες της 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 μπορεί ενδεχομένως να περιέχουν παθογόνα υλικά. Μετά την ολοκλήρωση του ελέγχου, τηρείτε τα τρέχοντα βιομηχανικά πρότυπα για την απόρριψη μολυσμένων αποβλήτων. Συμβουλευθείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για πρόσθετες πληροφορίες και τοπικούς κανονισμούς σχετικά με την απόρριψη.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Τηρείτε όλες τις οδηγίες προσεκτικά. Η μη τήρηση των οδηγιών μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβή αποτελέσματα.

Απολυμαίνετε περιοδικά τους πάγκους και τον εξοπλισμό του εργαστηρίου (πιπέτες, εργαλεία σφράγισης/αποσφράγισης κτλ.) με διάλυμα οικιακού λευκαντικού 1–5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) ή με διάλυμα απομάκρυνσης DNA.

ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Ο Πίνακας 2 παρουσιάζει οδηγίες για τον εμπλουτισμό δειγμάτων τροφίμων και περιβαλλοντικών δειγμάτων. Αποτελεί ευθύνη του χρήστη η επικύρωση εναλλακτικών πρωτοκόλλων δειγματοληψίας ή αναλογιών αραιώσης, προκειμένου να διασφαλιστεί ότι αυτή η μέθοδος ελέγχου πληροί τα κριτήρια του χρήστη.

Τρόφιμα

1. Αφίστε το μέσο εμπλουτισμού Ζωμού Demi Fraser (περιλαμβάνει εναμμόνιο κιτρικό σίδηρο) να εξισορροπήσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος εργαστηρίου.
2. Με άσπρη τρόπο, συνδυάστε το μέσο εμπλουτισμού και το δείγμα σύμφωνα με τον Πίνακα 2. Για όλα τα δείγματα κρέατος και δείγματα με υψηλή περιεκτικότητα σε σωματιδιακή ύλη, συνιστάται η χρήση ασκών φιλτραρίσματος.
3. Ομογενοποιήστε με ανάμιξη, με διαδικασία stomaching ή με το χέρι, πλήρως για 2 ± 0,2 λεπτά. Επωάστε στους 37 ± 1 °C σύμφωνα με τον Πίνακα 2.
4. Για ακατέργαστα γαλακτοκομικά προϊόντα, μεταφέρετε 0,1 mL του πρωτεύοντος εμπλουτισμού σε 10 mL Ζωμού Fraser. Επωάστε στους 37 ± 1 °C για 20–24 ώρες.

Περιβαλλοντικά δείγματα

Οι συσκευές δειγματοληψίας μπορεί να είναι ένας σπόγγος ενυδατωμένος με ουδετεροποιητικό διάλυμα για την εξουδετέρωση των επιδράσεων των αποστειρωτικών. Η 3M συνιστά τη χρήση σπόγγου κυτταρίνης χωρίς βιοκτόνα. Το διάλυμα εξουδετέρωσης μπορεί να είναι Ζωμός Εξουδετέρωσης Dey-Engley (D/E) ή ζωμός Lethen. Συνιστάται η αποστείρωση της περιοχής μετά τη δειγματοληψία.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Σε περίπτωση που επιλέξετε να χρησιμοποιήσετε Ουδετεροποιητικό Ρυθμιστικό Διάλυμα (ΟΡΔ) που περιέχει αρυλ-σουλφονικό σύμπλοκο ως ενυδατικό διάλυμα για τον σπόγγο, απαιτείται να πραγματοποιήσετε αραιώση 1:2 (1 μέρος δείγματος σε 1 μέρος στείρου ζωμού εμπλουτισμού) του εμπλουτισμένου περιβαλλοντικού δείγματος πριν από τον έλεγχο, έτσι ώστε να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ένα ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα που θα μπορούσε να οδηγήσει σε αποδέσμευση μολυσμένου προϊόντος.

Το συνιστώμενο μέγεθος της περιοχής δειγματοληψίας για την επαλήθευση της παρουσίας ή απουσίας του παθογόνου στην επιφάνεια είναι τουλάχιστον 100 cm² (10 cm x 10 cm ή 4"x4"). Κατά τη δειγματοληψία με σπόγγο, καλύψτε ολόκληρη την περιοχή σε δύο κατευθύνσεις (από αριστερά προς τα δεξιά και από πάνω προς τα κάτω) ή συλλέξτε περιβαλλοντικά δείγματα ακολουθώντας το τρέχον πρωτόκολλο δειγματοληψίας ή σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ ή ISO 18593⁽⁶⁾.

1. Αφήστε το μέσο εμπλουτισμού Ζωμού Demi Fraser (περιλαμβάνει εναμμένο κιτρινό σίδηρο) να εξισορροπήσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος εργαστηρίου.
2. Συνδυάστε με ασηπτικό τρόπο το μέσο εμπλουτισμού και το δείγμα, σύμφωνα με τον Πίνακα 2.
3. Ομογενοποιήστε με ανάμιξη, με διαδικασία stomaching ή με το χέρι, πλήρως για 2 ± 0,2 λεπτά. Επωάστε στους 37 ± 1 °C για 24–30 ώρες.

Πίνακας 2: Πρωτόκολλα εμπλουτισμού με χρήση Ζωμού Εμπλουτισμού Demi Fraser

Πίνακας δειγμάτων	Μέγεθος δείγματος	Όγκος ζωμού εμπλουτισμού (mL)	Θερμοκρασία εμπλουτισμού (°C)	Χρόνος εμπλουτισμού (ώρες)				
Θερμικά επεξεργασμένα, μαγειρεμένα, παστά κρέατα, πουλερικά, θαλασσινά και ψάρια Θερμικά επεξεργασμένα/ παστεριωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα Γεωργικά προϊόντα και λαχανικά Τρόφιμα πολλαπλών συστατικών	25 g	225	37	24–30				
Περιβαλλοντικά δείγματα	1 σπόγγος	100 ή 225	37	24–30				
	1 μάκτρο	10	37	24–30				
Ωμό κρέας, πουλερικά, θαλασσινά, ψάρια	25 g	475	37	28–32				
Πίνακας δειγμάτων	Πρωτεύων εμπλουτισμός (Ζωμός Demi Fraser)				Δευτερεύων εμπλουτισμός (Ζωμός Fraser)			Όγκος ανάλυσης δείγματος ^(α)
	Μέγεθος δείγματος	Όγκος ζωμού εμπλουτισμού (mL)	Θερμοκρασία εμπλουτισμού (°C)	Χρόνος εμπλουτισμού (ώρες)	Μέγεθος δείγματος	Θερμοκρασία εμπλουτισμού (°C)	Χρόνος εμπλουτισμού (ώρες)	
Ακατέργαστα γαλακτοκομικά προϊόντα	25 g	225	37	20–24	Μεταφέρετε 0,1 mL σε 10 mL Ζωμού Fraser	37	20–24	10 μL

(α) Όγκος δείγματος που μεταφέρεται σε δοκιμαστικούς σωλήνες λύσης. Ανατρέξτε στο βήμα 4.6 της ενότητας Λύση.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ 3M™ ΔΙΣΚΟΥ ΤΑΧΕΙΑΣ ΦΟΡΤΩΣΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

1. Διαβρέξτε ένα πανί με διάλυμα οικιακού λευκαντικού 1–5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) και ακουπίστε τον 3M™ Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης.
2. Ξεπλύνετε τον 3M Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης με νερό.
3. Χρησιμοποιήστε μια πετσέτα μίας χρήσης για να στεγνώσετε τον 3M Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης.
4. Διασφαλίστε ότι ο 3M Δίσκος Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης είναι στεγνός πριν τη χρήση.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ 3Μ™ ΕΝΘΕΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΗΣ ΣΩΛΗΝΩΝ ΓΙΑ ΨΥΞΗ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Τοποθετήστε το 3Μ™ Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης απευθείας επάνω στον πάγκο του εργαστηρίου (ο 3Μ™ Δίσκος Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης δεν χρησιμοποιείται). Χρησιμοποιήστε το ένθετο υποδοχής σωλήνων για ψύξη σε θερμοκρασία περιβάλλοντος εργαστηρίου (20–25 °C).

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ 3Μ™ ΕΝΘΕΤΟΥ ΓΙΑ ΥΠΟΔΟΧΗ ΣΩΛΗΝΩΝ ΘΕΡΜΑΝΤΗΡΟΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Τοποθετήστε το 3Μ™ Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρος Μοριακής Ανίχνευσης σε μια μονάδα υποδοχής σωλήνων ξηρής θέρμανσης. Ενεργοποιήστε τη μονάδα ξηρής θέρμανσης και ρυθμίστε τη θερμοκρασία για να επιτρέψετε στο 3Μ Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης να φθάσει και να διατηρήσει θερμοκρασία 100 ± 1 °C.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ανάλογα με τη μονάδα θέρμανσης, αφήστε το 3Μ Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης να φθάσει στην κατάλληλη θερμοκρασία για περίπου 30 λεπτά. Χρησιμοποιώντας ένα κατάλληλο, βαθμονομημένο θερμόμετρο (π.χ. θερμόμετρο μερικής εμβύθισης ή ψηφιακό θερμόμετρο θερμοζεύγους, όχι θερμόμετρο ολικής εμβύθισης) τοποθετημένο στην καθορισμένη θέση, επαληθεύστε ότι το 3Μ Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης βρίσκεται στους 100 ± 1 °C.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ 3Μ™ ΟΡΓΑΝΟΥ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

1. Εκκινήστε το 3Μ™ Λογισμικό Μοριακής Ανίχνευσης και συνδεθείτε.
2. Ενεργοποιήστε το 3Μ Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης.
3. Δημιουργήστε ή επεξεργαστείτε μια διαδικασία με δεδομένα για κάθε δείγμα. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του 3Μ Συστήματος Μοριακής Ανίχνευσης για λεπτομέρειες.

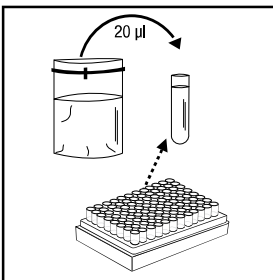
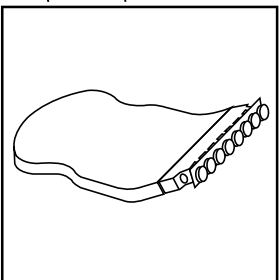
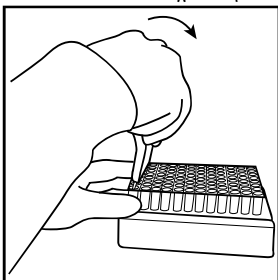
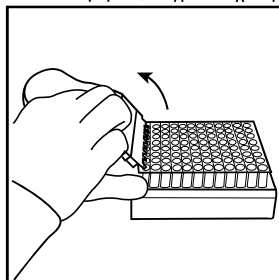
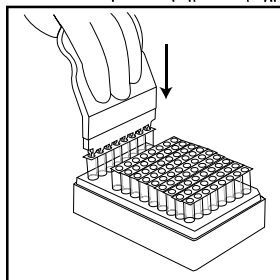
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το 3Μ Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης πρέπει να φθάσει και να διατηρήσει τη θερμοκρασία των 60 °C προτού εισαχθεί ο 3Μ Δίσκος Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης με τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντίδρασης. Αυτό το βήμα θέρμανσης διαρκεί περίπου 20 λεπτά και υποδεικνύεται από ένα ΠΟΡΤΟΚΑΛΙ φως στη γραμμή κατάστασης του οργάνου. Όταν το όργανο είναι έτοιμο για να αρχίσει μια διαδικασία, η γραμμή κατάστασης θα γίνει ΠΡΑΣΙΝΗ.

ΛΥΣΗ

1. Αφήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες λύσης (ΛΣ) να θερμανθούν θέτοντας το στατώ σε θερμοκρασία δωματίου (20–25 °C) κατά τη διάρκεια της νύχτας (16–18 ώρες). Εναλλακτικές λύσεις για την εξισορρόπηση των δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ σε θερμοκρασία δωματίου είναι να θέσετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες ΛΣ επάνω στον πάγκο του εργαστηρίου για τουλάχιστον 2 ώρες, να επωαστείτε τους δοκιμαστικούς σωλήνες ΛΣ σε επωαστήρα 37 ± 1 °C για 1 ώρα ή να τους τοποθετήσετε σε διπλή μονάδα υποδοχής σωλήνων ξηρής θέρμανσης για 30 δευτερόλεπτα στους 100 °C.
2. Αναστρέψτε τους πωματισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες για να αναμίξετε, έως 4 ώρες πριν τη χρήση.
3. Βγάλετε το ζυμό εμπλουτισμού από τον επωαστήρα.
4. Απαιτείται ένας δοκιμαστικός σωλήνας ΛΣ για κάθε δείγμα και το δείγμα Αρνητικού Ελέγχου (ΑΕ) (στείο μέσο εμπλουτισμού).
 - 4.1 Οι ταινίες δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ μπορούν να κοπούν στον επιθυμητό αριθμό δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ. Επιλέξτε τον αριθμό των μεμονωμένων δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ ή τις απαιτούμενες ταινίες των 8 δοκιμαστικών σωλήνων. Τοποθετήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες ΛΣ σε ένα κενό στατώ.
 - 4.2 Για να αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση, αποσφραγίζετε μία ταινία δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ κάθε φορά, και χρησιμοποιείτε νέο ρύγχος πιπέτας για κάθε βήμα μεταφοράς.
 - 4.3 Μεταφέρετε το εμπλουτισμένο δείγμα στους δοκιμαστικούς σωλήνες ΛΣ όπως περιγράφεται παρακάτω:

Μεταφέρετε κάθε εμπλουτισμένο δείγμα σε μεμονωμένο σωλήνα ΛΣ **πρώτα**. Μεταφέρετε τον ΑΕ **τελευταίο**.

- 4.4 Χρησιμοποιήστε το 3Μ™ Εργαλείο Σφράγισης/Αποσφράγισης - Λύσης Μοριακής Ανίχνευσης για να αποσφραγίσετε μία ταινία δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ — μία ταινία κάθε φορά.
- 4.5 Απορρίψτε το πώμα του δοκιμαστικού σωλήνα ΛΣ — εάν το λύμα πρόκειται να διατηρηθεί για επανέλεγχο, τοποθετήστε τα πώματα μέσα σε ένα καθαρό δοχείο για εκ νέου εφαρμογή μετά τη λύση. Για την επεξεργασία του διατηρημένου λύματος, βλ. Παράρτημα Α.
- 4.6 Μεταφέρετε 20 μL δείγματος σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα ΛΣ εκτός εάν υποδεικνύεται διαφορετικά στον πίνακα πρωτοκόλλου.
5. Επαναλάβετε το βήμα 4.2 μέχρι το κάθε επιμέρους δείγμα να έχει προστεθεί σε έναν αντίστοιχο δοκιμαστικό σωλήνα ΛΣ στην ταινία.

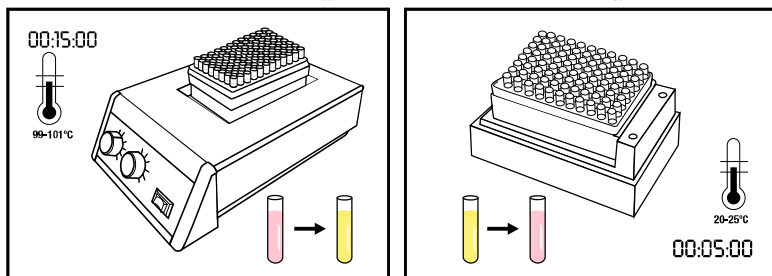


6. Επαναλάβετε τα βήματα 4.1 έως 4.6 όπως απαιτείται, για τον αριθμό των δειγμάτων προς έλεγχο.
7. Όταν έχουν μεταφερθεί όλα τα δείγματα, μεταφέρετε 20 μL του ΑΕ (στείο μέσο εμπλουτισμού, π.χ. Ζυμός Demi Fraser) σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα ΛΣ. Μη χρησιμοποιείτε νερό ως ΑΕ.
8. Επαληθεύστε ότι η θερμοκρασία του 3Μ Ένθετου για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης βρίσκεται στους 100 ± 1 °C.
9. Τοποθετήστε το ακάλυπτο στατώ δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ στο 3Μ Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης και θερμάνετε για 15 ± 1 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της θέρμανσης, το διάλυμα ΛΣ θα αλλάξει από ροζ (ψυχρό) σε κίτρινο (θερμό).

Δείγματα που δεν έχουν υποβληθεί στην κατάλληλη θερμική κατεργασία κατά τη διάρκεια του βήματος λύσης της δοκιμασίας μπορούν να θεωρηθούν ως πιθανός βιολογικός κίνδυνος και ΔΕΝ πρέπει να εισάγονται στο 3Μ Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης.

10. Αφαιρέστε το ακάλυπτο στατώ των δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ από το ένθετο θέρμανσης και αφήστε το να κρυώσει στο 3Μ Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης για τουλάχιστον 5 λεπτά και μέγιστο 10 λεπτά. Το 3Μ Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης, όταν χρησιμοποιείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς το Δίσκο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης, πρέπει να τοποθετηθεί απευθείας επάνω στον πάγκο του εργαστηρίου. Όταν κρυώσει, το διάλυμα λύσης θα αποκτήσει ξανά ροζ χρώμα.

11. Αφαιρέστε το στατώ των δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ από το 3Μ Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης.

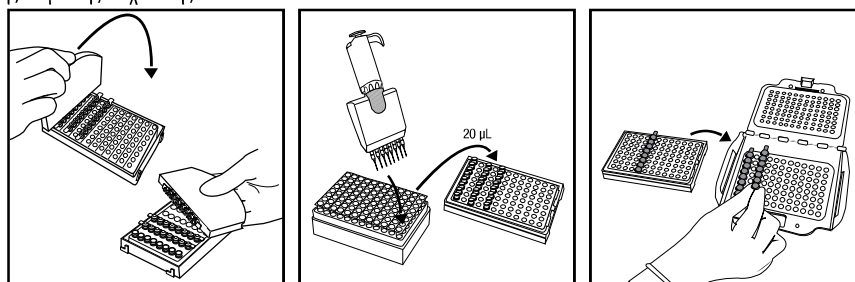


ΕΝΙΣΧΥΣΗ

- Απαιτείται ένας δοκιμαστικός σωλήνας Αντιδραστηρίου για κάθε δείγμα και τον ΑΕ.
 - Οι ταινίες δοκιμαστικών σωλήνων Αντιδραστηρίου μπορούν να κοπούν στον επιθυμητό αριθμό δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ. Επιλέξτε τον αριθμό των μεμονωμένων δοκιμαστικών σωλήνων Αντιδραστηρίου ή τις απαιτούμενες ταινίες των 8 δοκιμαστικών σωλήνων.
 - Τοποθετήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες Αντιδραστηρίου σε ένα κενό στατώ.
 - Αποφύγετε να διαταράξετε τα σφαιρίδια αντιδραστηρίου από τον πάτο των δοκιμαστικών σωλήνων.
- Επιλέξτε 1 δοκιμαστικό σωλήνα Ελέγχου Αντιδραστηρίου (ΕΑ) και τοποθετήστε τον στο στατώ.
- Για να αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση, αποσφραγίζετε μία ταινία δοκιμαστικών σωλήνων Αντιδραστηρίου κάθε φορά, και χρησιμοποιείτε νέο ρύγχος πιπέτας για κάθε βήμα μεταφοράς.
- Μεταφέρετε το λύμα στους δοκιμαστικούς σωλήνες Αντιδραστηρίου και στο δοκιμαστικό σωλήνα ΕΑ όπως περιγράφεται παρακάτω:

Μεταφέρετε κάθε λύμα δείγματος στους επιμέρους δοκιμαστικούς σωλήνες Αντιδραστηρίου **πρώτα** και στη συνέχεια τον ΑΕ. Ενυδατώστε το δοκιμαστικό σωλήνα ΕΑ **τελευταίο**.

- Χρησιμοποιήστε το 3Μ™ Εργαλείο Σφράγισης/Αποσφράγισης - Αντιδραστηρίου Μοριακής Ανίχνευσης για να αποσφραγίσετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες Αντιδραστηρίου – μία ταινία δοκιμαστικών σωλήνων Αντιδραστηρίου κάθε φορά. Απορρίψτε το πώμα.
 - Μεταφέρετε 20 µL λύματος δείγματος από το δοκιμαστικό σωλήνα ΛΣ μέσα στον αντίστοιχο δοκιμαστικό σωλήνα Αντιδραστηρίου. Χορηγήστε υπό γωνία για να αποφύγετε να διαταράξετε τα σφαιρίδια. Αναμίξτε πιπετάροντας προσεκτικά πάνω-κάτω 5 φορές.
 - Επαναλάβετε το βήμα 5.1 μέχρι το επιμέρους λύμα δείγματος να έχει προστεθεί σε έναν αντίστοιχο δοκιμαστικό σωλήνα Αντιδραστηρίου στην ταινία.
 - Καλύψτε τους δοκιμαστικούς σωλήνες Αντιδραστηρίου με τα παρεχόμενα επιπλέον πώματα και χρησιμοποιήστε τη στρογγυλεμένη πλευρά του 3Μ Εργαλείου Σφράγισης/Αποσφράγισης - Αντιδραστηρίου Μοριακής Ανίχνευσης για να ασκήσετε πίεση με μια κίνηση εμπρός-πίσω, διασφαλίζοντας ότι το πώμα έχει εφαρμοστεί σφικτά.
 - Επαναλάβετε το βήμα 5.1 όπως απαιτείται, για τον αριθμό των δειγμάτων προς έλεγχο.
 - Όταν όλα τα λύματα δείγματος έχουν μεταφερθεί, επαναλάβετε το βήμα 4.1 για να μεταφέρετε 20 µL του λύματος ΑΕ μέσα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα Αντιδραστηρίου.
 - Μεταφέρετε **20 µL του λύματος ΑΕ μέσα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα ΕΑ**. Χορηγήστε υπό γωνία για να αποφύγετε να διαταράξετε τα σφαιρίδια. Αναμίξτε πιπετάροντας προσεκτικά πάνω-κάτω 5 φορές.
- Φορτώστε τους σφραγισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες σε έναν καθαρό και απολυμασμένο 3Μ Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης. Κλείστε και ασφαλίστε το καπάκι του 3Μ Δίσκου Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης.



- Ανασκοπήστε και επιβεβαιώστε τη διαμορφωμένη διαδικασία στο 3Μ Λογισμικό Μοριακής Ανίχνευσης.
- Κάντε κλικ στο κουμπί Έναρξη στο λογισμικό και επιλέξτε το όργανο που θα χρησιμοποιηθεί. Το καπάκι του επιλεγμένου οργάνου ανοίγει αυτόματα.
- Τοποθετήστε τον 3Μ Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης μέσα στο 3Μ Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης και κλείστε το καπάκι για να εκκινήσετε τη δοκιμασία. Τα αποτελέσματα παρέχονται εντός 75 λεπτών, αν και τα θετικά μπορεί να ανιχνευθούν νωρίτερα.
- Αφού ολοκληρωθεί η δοκιμασία, αφαιρέστε τον 3Μ Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης από το 3Μ Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης και απορρίψτε τους δοκιμαστικούς σωλήνες μουλιάζοντάς τους σε διάλυμα οικιακού λευκαντικού 1–5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) για 1 ώρα και μακριά από την περιοχή προετοιμασίας της δοκιμασίας.

ΥΠΟΔΕΙΞΗ: Για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων λόγω διασταυρούμενης μόλυνσης, ποτέ μην ανοίγετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίων που περιέχουν ενισχυμένο DNA. Αυτό συμπεριλαμβάνει δοκιμαστικούς σωλήνες Ελέγχου Αντιδραστηρίου, Αντιδραστηρίου και Πίνακα Ελέγχου. Απορρίψτε πάντοτε τους σφραγισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου μουλιάζοντάς τους σε διάλυμα οικιακού λευκαντικού 1–5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) για 1 ώρα και μακριά από την περιοχή προετοιμασίας της δοκιμασίας.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Ένας αλγόριθμος ερμηνεύει την καμπύλη παροχής φωτός που προκύπτει από την ανίχνευση της ενίσχυσης νουκλεϊνικών οξέων. Τα αποτελέσματα αναλύονται αυτόματα από το

λογισμικό και κωδικοποιούνται χρωματικά με βάση το αποτέλεσμα. Ένα θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα καθορίζεται μέσω ανάλυσης ενός αριθμού μοναδικών παραμέτρων καμπύλης. Τα υποθετικά θετικά αποτελέσματα αναφέρονται σε πραγματικό χρόνο, ενώ τα αρνητικά και τα αποτελέσματα Προς Επιθεώρηση εμφανίζονται μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας.

Πιθανά θετικά δείγματα πρέπει να επιβεβαιώνονται σύμφωνα με τις τυπικές διαδικασίες λειτουργίας του εργαστηρίου ή ακολουθώντας την κατάλληλη επιβεβαίωση μεθόδου αναφοράς^(1,2,3), αρχίζοντας με τη μεταφορά από τον πρωτογενή εμπλουτισμό στους ζωμούς δευτερεύοντος εμπλουτισμού (αν εφαρμόζεται), ακολουθούμενη από μετέπειτα εξέταση σε αντικειμενοφόρο και επιβεβαίωση των απομονωμάτων χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες βιοχημικές και οροδιαγνωστικές μεθόδους.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ακόμα και ένα αρνητικό δείγμα δεν θα δώσει μηδενική ένδειξη, καθώς το σύστημα και τα αντιδραστήρια ενίσχυσης 3M Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης *Listeria monocytogenes* 2 έχουν μια σχετική μονάδα φωτός (RLU) "υποβάθρου".

Στη σπάνια περίπτωση ασυνήθιστης παροχής φωτός, ο αλγόριθμος το επισημαίνει ως "Προς Επιθεώρηση". Η 3M συνιστά στο χρήστη να επαναλάβει τη δοκιμασία για όλα τα δείγματα Προς Επιθεώρηση. Εάν το αποτέλεσμα συνεχίζει να είναι Προς Επιθεώρηση, προχωρήστε στον έλεγχο επιβεβαίωσης χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που προτιμάτε ή όπως καθορίζεται από τους τοπικούς κανονισμούς.

Εάν έχετε ερωτήσεις σχετικά με συγκεκριμένες εφαρμογές ή διαδικασίες, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη διεύθυνση www.3M.com/foodsafety ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της 3M.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

Παράρτημα Α. Διακοπή πρωτοκόλλου: Αποθήκευση και επανέλεγχος θερμικά κατεργασμένων λυμάτων

1. Για να αποθηκεύσετε ένα θερμικά κατεργασμένο λύμα, επαναπαματίστε το δοκιμαστικό σωλήνα λύσης με ένα καθαρό πώμα (βλ. "Λύση", 4.5).
2. Αποθηκεύστε στους 4 έως 8 °C για έως 72 ώρες.
3. Προετοιμάστε ένα αποθηκευμένο δείγμα για ενίσχυση αναστρέφοντας 2–3 φορές για να αναμίξετε.
4. Αφαιρέστε το πώμα από τους δοκιμαστικούς σωλήνες.
5. Τοποθετήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες με το αναμεμιγμένο λύμα στο 3M Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης και θερμάνετε στους 100 ± 1 °C για 5 ± 1 λεπτά.
6. Αφαιρέστε το ακάλυπτο στατώ των δοκιμαστικών σωλήνων ΛΣ από το ένθετο θέρμανσης και αφήστε το να κρυώσει στο 3M Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης για τουλάχιστον 5 λεπτά και μέγιστο 10 λεπτά.
7. Συνεχίστε το πρωτόκολλο στην ενότητα 'Ενίσχυση' που περιγράφεται λεπτομερώς παραπάνω.

ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΒΟΛΩΝ ΣΤΙΣ ΕΤΙΚΕΤΕΣ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ



Προσοχή ή προειδοποίηση, δείτε τις οδηγίες του προϊόντος.



Συμβουλευθείτε τις πληροφορίες του προϊόντος.



Η παρτίδα σε ένα κουτί αντιπροσωπεύει τον αριθμό παρτίδας.



Η κλεψύδρα συνοδεύεται από μήνα και έτος που αντιπροσωπεύουν την ημερομηνία λήξης.



Περιορισμοί θερμοκρασίας αποθήκευσης.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Informacje o produkcie

Molekularny test do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes*

MDA2LM096

OPIS I PRZEZNACZENIE PRODUKTU

Molekularny test 3M™ do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* stosuje się z systemem 3M™ do diagnostyki molekularnej w celu szybkiego i selektywnego wykrywania gatunków *Listeria* we wzbogacanych próbkach spożywczych i środowiskowych.

Molekularne testy 3M do wykrywania mikroorganizmów wykorzystują 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 pozytywne przekazuje się w czasie rzeczywistym, zaś wyniki negatywne wyświetlą się po zakończeniu testu. Domniemane wyniki pozytywne wymagają potwierdzenia preferowaną metodą lub metodą wynikającą z lokalnych przepisów^(1, 2, 3).

Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* jest przeznaczony do stosowania w środowisku laboratoryjnym przez specjalistów posiadających stosowne przeszkolenie w stosowaniu praktyk laboratoryjnych. Firma 3M nie udokumentowała zastosowania tego produktu w gałęziach przemysłu innych niż żywność i napoje. Przykładowo, firma 3M nie udokumentowała zastosowania tego produktu do badania próbek wody, leków, kosmetyków, próbek klinicznych lub weterynaryjnych. Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* nie oceniono przy użyciu wszystkich możliwych protokołów testowych ani przy użyciu wszystkich dostępnych szczepów bakterii.

Podobnie jak w przypadku wszystkich metod badawczych, podłoże wzbogacające może wpłynąć na wyniki. Firma 3M oceniała molekularny test 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* przy użyciu bazy bulionowej pół-Frasera zawierającej cytrynian żelazowo-amonowy. Typowy skład tego podłoża zaprezentowano poniżej.

Typowy skład bazy bulionowej pół-Frasera (g/l)

Chlorek sodu	20 g
Fosforan sodowy, dwuzasadowy, bezwodny*	9,6 g
Wyciąg z wołowiny	5,0 g
Produkt trawienia kazeiny enzymami trzustkowymi	5,0 g
Produkt trawienia tkanek zwierzęcych enzymami pepsynowymi	5,0 g
Wyciąg z drożdży	5,0 g
Chlorek litu	3,0 g
Fosforan potasu, monozasadowy	1,35 g
Eskulina	1,0 g
Chlorowodorek akryflawiny	0,0125 g
Kwas naldyksowy	0,01 g
* Zamiennik: Fosforan sodowy, dwuzasadowy, dwuwodny	12,0 g

Bulion Fradera, dodatek

(Składniki na fiolkę o pojemności 10 ml. Jedną fiolkę dodaje się do jednego litra podstawowego podłoża).

Cytrynian żelazowo-amonowy	0,5 g/10 ml
----------------------------	-------------

Końcowe pH – 7,2 ± 0,2 w temperaturze 25°C

Urządzenie 3M™ do diagnostyki molekularnej należy stosować dla próbek poddanych obróbce cieplnej na etapie lizy, której zadaniem jest zniszczenie organizmów obecnych w próbce. Próbkę, które nie przeszły odpowiedniej obróbki cieplnej na etapie lizy, można uznać za potencjalne zagrożenie biologiczne i NIE należy ich umieszczać w urządzeniu 3M do diagnostyki molekularnej.

Firma 3M Food Safety została wyróżniona certyfikatem ISO (ang. International Organization for Standardization — Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna) 9001 w zakresie projektowania i wytwarzania.

Zestaw molekularnych testów 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* zawiera 96 testów opisanych w Tabeli 1.

Tabela 1. Składniki zestawu

Element	Charakterystyka	Ilość	Zawartość	Komentarze
Probówki z roztworem lizującym (LS)	Różowy roztwór w przezroczystych probówkach	96 (12 taśm z 8 probówkami)	580 µl LS na probówkę	Ustawione w statywie i gotowe do użytku
<i>Listeria monocytogenes</i> Probówki reagentu	Żółte probówki	96 (12 taśm z 8 probówkami)	Liofilizowana swoista mieszanina do amplifikacji i wykrywania	Gotowe do użycia
Dodatkowe korki	Żółte korki	96 (12 taśm z 8 korkami)		Gotowe do użycia
Kontrola reagentu (KR)	Przezroczyste probówki z korkiem zatraskowym	16 (2 woreczki po 8 oddzielnych probówek)	Liofilizowane DNA kontrolne, mieszanina do amplifikacji i wykrywania	Gotowe do użycia
Skrócona instrukcja obsługi		1		

Kontrola ujemna, której nie dostarczono w zestawie, to jałowe podłoże wzbogacające, np. baza bulionowa pół-Frasera. Nie stosować wody jako kontroli ujemnej.

BEZPIECZEŃSTWO

Użytkownik musi przeczytać wszelkie informacje dotyczące bezpieczeństwa zawarte w instrukcji dotyczącej systemu 3M do diagnostyki molekularnej oraz molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* i stosować się do tych instrukcji. Należy zachować instrukcję bezpieczeństwa, aby móc z niej skorzystać w przyszłości.

- ⚠ **OSTRZEŻENIE:** Oznacza niebezpieczną sytuację, której skutkiem, w razie braku podjęcia środków zapobiegawczych, mogą być poważne obrażenia ciała lub śmierć i/lub uszkodzenia mienia.
- ⚠ **PRZESTROGA:** Oznacza niebezpieczną sytuację, której skutkiem, w razie niepodjęcia środków zapobiegawczych, mogą być pomniejsze lub umiarkowane obrażenia ciała i/lub uszkodzenia mienia.

WAŻNA INFORMACJA: Oznacza potencjalnie niebezpieczną sytuację, której skutkiem, w razie niepodjęcia środków zapobiegawczych, może być uszkodzenie mienia.

⚠ OSTRZEŻENIE

Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* nie należy stosować do diagnozy stanu ludzi lub zwierząt.

Metoda molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* może wygenerować poziomy *Listeria monocytogenes* wystarczające do spowodowania urodzenia martwego płodu oraz zgonu u kobiet ciężarnych i osób o upośledzonej odporności, o ile dojdzie do ekspozycji.

Obowiązkiem użytkownika jest przeszkolenie personelu w zakresie aktualnych, odpowiednich technik badań: przykładowo, dobrej praktyki laboratoryjnej, ISO 17025⁽⁴⁾ lub ISO 7218⁽⁵⁾.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z wynikiem fałszywie ujemnym prowadzącym do wydania zanieczyszczonego produktu:

- Należy postępować zgodnie z protokołem i wykonywać testy zgodnie z zaleceniami podanymi w informacjach o produkcie.
- Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* należy przechowywać w sposób podany na opakowaniu i w informacjach o produkcie.
- Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* należy zawsze wykorzystywać przed upływem terminu ważności.
- Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* należy wykorzystywać do badania próbek żywności i środowiskowych próbek poddanych walidacji wewnętrznej lub przez osoby trzecie.
- Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* należy wykorzystywać wyłącznie w połączeniu z powierzchniami, środkami odkażającymi, protokołami i szczepami bakterii poddanych walidacji wewnętrznej lub przez osoby trzecie.
- W przypadku próbki środowiskowej zawierającej bufor zobojętniający z kompleksem sulfonianu arylu należy przez rozpoczęciem badań wykonać rozcieńczenie 1:2 (1 część próbki na 1 część jałowego bulionu wzbogacającego). Produkty 3M™ do obsługi próbek, które zawierają bufor zobojętniający: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB i HS119510NB.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z narażeniem na substancje chemiczne i zagrożenia biologiczne:

- Zdecydowanie zaleca się poinformowanie kobiet pracujących w laboratorium o zagrożeniu dla rozwijającego się płodu związanego z infekcją matki przez ekspozycję na *Listeria monocytogenes*.
- Badania patogenów należy prowadzić w odpowiednio wyposażonym laboratorium pod kontrolą przeszkolonego personelu.
- Należy zawsze przestrzegać standardowych laboratoryjnych praktyk bezpieczeństwa, łącznie z noszeniem odpowiedniej odzieży i okularów ochronnych przy zajmowaniu się reagentami i skażonymi próbkami.
- Unikać kontaktu z zawartością podłoża wzbogacającego i próbek z reagentem po amplifikacji.
- Wzbogacone próbki należy zutylizować zgodnie z bieżącymi standardami branżowymi.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z zanieczyszczeniem krzyżowym podczas przygotowania testu:

- Należy zawsze nosić rękawiczki (aby chronić użytkownika i zapobiec wprowadzeniu nukleaz).

Aby zmniejszyć zagrożenia związane ze skażeniem środowiska:

- Należy przestrzegać bieżących norm branżowych dotyczących utylizacji odpadów skażonych.

⚠ PRZESTROGA

- Nie przekraczać zalecanych ustawień temperatury w bloku grzewczym.
- Nie przekraczać zalecanego czasu ogrzewania.
- Stosować odpowiedni, kalibrowany termometr do potwierdzenia poprawności temperatury wkładki 3M™ bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej (np. termometr zanurzeniowy zanurzany częściowo lub cyfrowy termometr z termoogniwem, ale nie termometr zanurzeniowy zanurzany całkowicie). Termometr trzeba umieścić w wyznaczonym miejscu wkładki 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej.

WAŻNA INFORMACJA

Aby zmniejszyć ryzyko związane z zanieczyszczeniem krzyżowym podczas przygotowania testu:

- Zaleca się stosować jałowe końcówki pipet do biologii molekularnej z (filtrowaną) barierą aerolową.
- Do każdego przeniesienia próbki używać nowej końcówki pipety.
- Przy przenoszeniu próbek z próbki wzbogacenia do próbki lizatu należy przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Aby uniknąć skażenia pipetora, użytkownik może zdecydować się dodać etap transferu pośredniego. Przykładowo, można przenieść wzbogaconą próbkę do jałowej próbki.
- W miarę możliwości należy używać stanowiska badawczego biologii molekularnej z lampą bakterioobójczą.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z wynikiem fałszywie dodatnim:

- Nie otwierać próbek po procesie amplifikacji.
- Zanieczyszczone próbki należy utylizować, namaczając je w 1–5% (obj./obj., wodnym) roztworze domowego wybielacza przez 1 godzinę i wynosząc poza obszar przygotowania testów.

Dodatkowe informacje oraz lokalne przepisy dotyczące utylizacji zawiera karta charakterystyki produktu.

W przypadku pytań na temat konkretnych zastosowań lub procedur należy odwiedzić stronę www.3M.com/foodsafety lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy 3M.

WYŁĄCZENIA GWARANCJI / OGRANICZONE ŚRODKI ZARADCZE

JEŚLI NIE ZOSTAŁO TO WYRAŹNIE OKREŚLONE W ROZDZIALE DOT. POJEDYNYCH OPAKOWAŃ PRODUKTÓW OGRANICZONEJ GWARANCJI, 3M WYŁĄCZA ODPOWIEDZIALNOŚĆ WSZYSTKICH GWARANCJI W SPOSÓB JAWNY ORAZ DOROZUMIANY, W TYM MIĘDZY INNYMI, DOWOLNYCH GWARANCJI ZGODNOŚCI Z PRZEZNACZENIEM I PRZYDATNOŚCI DO OKREŚLONEGO CELU. Jeśli zostanie dowiedzione, że jakiegokolwiek produkt Bezpieczeństwa żywności 3M jest wadliwy, firma 3M lub jej autoryzowany dystrybutor wymieni lub, według uznania, zwróci koszty zakupu tego produktu. Są to jedyne przysługujące środki zaradcze. W ciągu 60 dni od wykrycia jakiegokolwiek podejrzanego wady produktu należy niezwłocznie powiadomić firmę 3M oraz zwrócić produkt. W celu uzyskania informacji na temat procedury zwrotu towarów (RGA) należy skontaktować się z biurem obsługi klienta (1-800-328-1671 na terenie USA) lub z oficjalnym przedstawicielem ds. bezpieczeństwa żywności firmy 3M.

OGRANICZENIE ODPOWIEDZIALNOŚCI FIRMY 3M

3M NIE BĘDZIE ODPOWIEDZIALNA ZA JAKIEKOLWIEK SZKODY LUB STRATY, ZARÓWNO BEZPOŚREDNIE, POŚREDNIE, SZCZEGÓLNE, UBOCZNE LUB NASTĘPCZE, W TYM MIĘDZY INNYMI ZA UTRACONE ZYSKI. W żadnym wypadku odpowiedzialność firmy 3M przyznana na mocy prawa nie może przekroczyć ceny zakupu produktu, wobec którego domniemywa się, że jest wadliwy.

OBOWIĄZKI UŻYTKOWNIKA

Użytkownicy są odpowiedzialni za zapoznanie się z instrukcjami oraz informacjami dotyczącymi produktu. W celu uzyskania dodatkowych informacji zapraszamy do odwiedzenia naszej strony internetowej pod adresem www.3M.com/foodsafety lub zachęcamy do skontaktowania się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy 3M.

Przy wyborze metody testowania należy mieć na uwadze, że takie czynniki zewnętrzne, jak metody próbkowania, protokoły testowania, przygotowanie próbki, dalsze postępowanie i technika laboratoryjna mogą wpływać na uzyskiwane wyniki.

Obowiązkiem użytkownika przy wyborze jakiegokolwiek metody testowania lub produktu jest poddanie ocenie dostatecznej liczby próbek z właściwymi matrycami i z uwzględnieniem zagrożeń powodowanych przez mikroorganizmy, tak aby zastosowana metoda mogła spełnić oczekiwania użytkownika i ustalone przez niego kryteria.

Obowiązkiem użytkownika jest również dopilnować, aby zastosowane metody testowania i uzyskane wyniki spełniały wymagania klienta i dostawcy.

Tak jak w przypadku każdej metody testowania, wyniki uzyskiwane za pomocą produktu Bezpieczeństwa żywności 3M nie stanowią gwarancji jakości testowanych matryc lub procesów.

Aby pomóc klientom ocenić metodę różnych macierzy spożywczych, firma 3M opracowała zestaw kontroli 3M™ macierzy do diagnostyki molekularnej. W razie potrzeby należy użyć zestawu kontroli macierzy (KM) do ustalenia, czy dana macierz może wpływać na wyniki molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes*. Należy przetestować kilka próbek reprezentatywnych dla macierzy, czyli próbek pozyskanych z różnych źródeł, podczas dowolnego okresu walidacji, przy stosowaniu metody firmy 3M lub podczas testowania nowych lub nieznanych macierzy albo macierzy poddanych zmianom w zakresie procesu lub surowców.

Macierz można zdefiniować jako typ produktu o samoistnych właściwościach, takich jak skład i proces. Różnice pomiędzy macierzami mogą być równie proste, jak efekty spowodowane różnicami w procedurach obróbki lub prezentacji, przykładowo surowe versus pasteryzowane, świeże versus suszone itd.

PRZECHOWYWANIE I UTYLIZACJA

Przechowywać molekularny test 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* 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 próbki z reagentem należy przechowywać w woreczku wielokrotnego zamknięcia z pochłaniaczem wilgoci wewnątrz, co pozwoli zachować stabilność liofilizowanych reagentów. Ponownie zamknięte woreczki można przechowywać w temp. 2–8°C maksymalnie przez 60 dni.

Nie wolno używać molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* po upływie terminu ważności. Termin ważności i numer partii podano na zewnętrznej etykiecie pudełka. Po użyciu podłoże wzbogacające i próbki molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* mogą potencjalnie zawierać materiały patogenne. Po zakończeniu badania należy stosować się do bieżących standardów branżowych dotyczących utylizacji zanieczyszczonych odpadów. Dodatkowe informacje oraz lokalne przepisy dotyczące utylizacji zawiera karta charakterystyki produktu.

INSTRUKCJE STOSOWANIA

Należy dokładnie przestrzegać wszystkich instrukcji. W przeciwnym razie wyniki mogą być niedokładne.

Należy okresowo dezynfekować stoły i sprzęt laboratoryjny (pipety, narzędzia do zakładania/zdejmowania korków itp.) za pomocą 1–5% (obj./obj., wodnego) roztworu domowego wybielacza lub roztworu do usuwania DNA.

WZBOGACANIE PRÓBK

W tabeli 2 przedstawiono wytyczne dotyczące wzbogacania próbek żywności oraz próbek środowiskowych. Użytkownik ma obowiązek przeprowadzić walidację alternatywnych protokołów próbkowania lub proporcji roztworów, aby sprawdzić, czy dana metoda badawcza spełnia kryteria określone przez użytkownika.

Artykuły spożywcze

1. Umożliwić podłożu wzbogacającemu bazy bulionowej pół-Frasera (zawiera cytrynian żelazowo-amonowy) osiągnięcie temperatury otoczenia w laboratorium.
2. Połączyć podłoże wzbogacające i próbkę w warunkach aseptycznych, zgodnie z Tabelą 2. W przypadku próbek mięsa i innych próbek o wysokiej zawartości cząstek stałych zaleca się stosowanie worków z filtrem.
3. Dokładnie zhomogenizować poprzez łączenie, zastosowanie stomachera lub też mieszanie ręczne przez $2 \pm 0,2$ minuty. Inkubować w temperaturze $37 \pm 1^\circ\text{C}$, tak jak podano w tabeli 2.
4. W przypadku surowych produktów mlecznych przenieść 0,1 ml podstawowej pożywki wzbogacającej do 10 ml bulionu do frezowania. Inkubować w temperaturze $37 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 20–24 godzin.

Próbki środowiskowe

Narzędziem do pobierania próbek może być gąbka lub wymazówka nasączona roztworem neutralizującym, co pozwoli usunąć skutki działania środków odkażających. Firma 3M zaleca stosowanie gąbki celulozowej pozbawionej biocydów. Roztwór neutralizujący może oznaczać bulion neutralizujący Dey-Engley (D/E) lub bulion Lethen. Po pobraniu próbki zaleca się odkażenie powierzchni.

OSTRZEŻENIE: Jeżeli w charakterze roztworu do nasączenia gąbki wybiorą Państwo bufor neutralizujący (BN) zawierający kompleks sulfonianu aryłu, przed rozpoczęciem badania powinni Państwo przygotować rozcieńczenie 1:2 (1 część próbki w 1 części jałowego bulionu wzbogacającego) wzbogaconej próbki środowiskowej, co pozwoli zmniejszyć zagrożenia związane z fałszywie ujemnym wynikiem prowadzącym do wydania zanieczyszczonego produktu.

Zalecana wielkość obszaru próbkowania pozwalająca zweryfikować obecność lub nieobecność patogenu na powierzchni wynosi co najmniej 100 cm² (10 cm x 10 cm lub 4" x 4"). Podczas próbkowania za pomocą gąbki całą powierzchnię należy pokryć w dwóch kierunkach (od lewej do prawej, a potem w górę i w dół) lub zebrać próbki środowiskowe zgodnie z bieżącym protokołem próbkowania albo zgodnie z wytycznymi FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ lub ISO 18593⁽⁶⁾.

1. Umożliwić podłożu wzbogacającemu bazy bulionowej pół-Frasera (zawiera cytrynian żelazowo-amonowy) osiągnięcie temperatury otoczenia w laboratorium.
2. Stosując metodę aseptyczną, w sposób zgodny z tabelą 2 połączyć żywną wzbogacającą i próbkę.
3. Dokładnie zhomogenizować poprzez łączenie, zastosowanie stomachera lub też mieszanie ręczne przez 2 ± 0,2 minuty. Inkubować w temperaturze 37 ± 1°C przez 24–30 godzin.

Tabela 2: Protokoły wzbogacania przy użyciu wzbogacającej bazy bulionowej pół-Frasera

Macierz próbki	Wielkość próbki	Objętość bulionu wzbogacającego (ml)	Temperatura wzbogacania (°C)	Czas wzbogacania (godz.)				
Poddane obróbce cieplnej, gotowane, peklowane mięsa, drób, owoce morza i ryby Poddane obróbce cieplnej/pasteryzowane produkty mleczarskie Produkty rolne i warzywa Żywność wieloskładnikowa	25 g	225	37	24–30				
Próbki środowiskowe	1 gąbka	100 lub 225	37	24–30				
	1 wymazówka	10	37	24–30				
Surowe mięso, drób, owoce morza, ryby	25 g	475	37	28–32				
Macierz próbki	Podstawowe wzbogacenie (baza bulionowa pół-Frasera)				Dodatkowe wzbogacenie (bulion Fradera)			Objętość analizowanej próbki ^(a)
	Wielkość próbki	Objętość bulionu wzbogacającego (ml)	Temperatura wzbogacania (°C)	Czas wzbogacania (godz.)	Wielkość próbki	Temperatura wzbogacania (°C)	Czas wzbogacania (godz.)	
Surowe produkty mleczarskie	25 g	225	37	20–24	Przenieść 0,1 ml do 10 ml bulionu Fradera	37	20–24	10 µl

(a) Objętość próbki przeniesionej do próbek z roztworem lizującym. Zapoznać się z krokiem 4.6 w części dotyczącej lizy.

PRZYGOTOWANIE TACY 3M™ URZĄDZENIA SZYBKIEGO ŁADOWANIA TESTÓW DO DIAGNOSTYKI MOLEKULARNEJ

1. Zmoczyć szmatkę 1–5% (obj./obj., wodnym) roztworem wybielacza do użytku domowego i przetrzeć nim tacę 3M™ urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej.
2. Spłukać wodą tacę 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej.
3. Osuszyć tacę 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej za pomocą jednorazowego ręcznika.
4. Przed rozpoczęciem użytkowania należy sprawdzić, czy taca 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej jest sucha.

PRZYGOTOWANIE WKŁADKI 3M™ BLOKU CHŁODZENIA DO DIAGNOSTYKI MOLEKULARNEJ

Umieścić wkładkę 3M™ bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej bezpośrednio na stole laboratoryjnym; (nie stosuje się tacy 3M™ bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej). Stosować blok chłodzenia w temperaturze otoczenia w laboratorium (20–25°C).

PRZYGOTOWANIE WKŁADKI 3M™ BLOKU GRZEWczego DO DIAGNOSTYKI MOLEKULARNEJ

Wkładkę 3M™ bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej należy umieścić w suchym bloku grzewczym. Włączyć suchy blok grzewczy i ustawić temperaturę, pozwalającą wkładce 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej osiągnąć i utrzymać temperaturę $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

UWAGA: W zależności od typu bloku grzewczego wkładkę 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej należy zostawić na około 30 minut, by osiągnęła temperaturę. Używając odpowiedniego, skalibrowanego termometru (takiego jak termometr zanurzeniowy zanurzany częściowo lub cyfrowy termometr z termoogniwem, ale nie termometr zanurzeniowy zanurzany całkowicie) umieszczonego w wyznaczonym miejscu, sprawdzić, czy temperatura wkładki 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej wynosi $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

PRZYGOTOWANIE URZĄDZENIA 3M™ DO DIAGNOSTYKI MOLEKULARNEJ

1. Uruchomić oprogramowanie 3M™ do diagnostyki molekularnej i zalogować się.
2. Włączyć urządzenie 3M do diagnostyki molekularnej.
3. Utworzyć lub edytować serię z danymi dla każdej próbki. Szczegółowe informacje są dostępne w instrukcji obsługi systemu 3M do diagnostyki molekularnej.

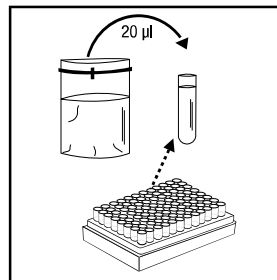
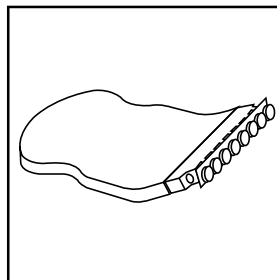
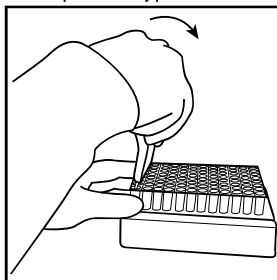
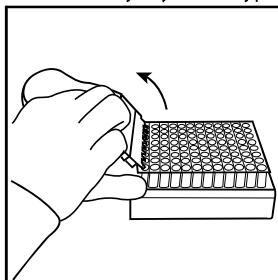
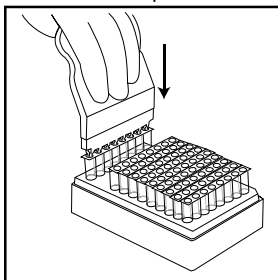
UWAGA: Przed włożeniem tacy 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej z próbkami reakcyjnymi, urządzenie 3M do diagnostyki molekularnej musi osiągnąć i utrzymać temperaturę 60°C . Etap nagrzewania trwa około 20 minut i oznacza go POMARAŃCZOWA kontrolka na pasku stanu urządzenia. Kiedy urządzenie będzie gotowe do rozpoczęcia analizy, kolor paska stanu zmieni się na ZIELONY.

LIZA

1. Umożliwić ogrzanie próbek z roztworem lizującym (LS) przez pozostawienie stojaka w temperaturze pokojowej (20–25 °C) przez noc (16–18 godzin). Alternatywą dla równoważenia temperatury próbek LS do temperatury pokojowej jest ustawienie próbek LS na stole laboratoryjnym przez co najmniej 2 godziny, inkubacja próbek LS w cieplarni nastawionej na $37 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 1 godzinę lub umieszczenie ich w suchym podwójnym bloku grzewczym na 30 sekund w temp. 100°C .
2. Odwrócić próbki z zamkniętym korkiem w celu wymieszania, aż do 4 godzin przed użyciem.
3. Wyjąć bulion wzbogacający z cieplarki.
4. Wymagana jest jedna próbka LS na każdą próbkę oraz próbka kontroli ujemnej (KU) (jałowe podłoże wzbogacające).
 - 4.1 Taśmy z próbkami LS można dociąć do żądanej liczby próbek LS. Zależnie od sytuacji należy dobrać liczbę pojedynczych próbek LS lub taśm złożonych z 8 próbek. Umieścić próbki LS w pustym statywie.
 - 4.2 Aby uniknąć zanieczyszczeń krzyżowych, w danej chwili należy otworzyć jedną taśmę z próbkami LS i na każdym etapie przenoszenia stosować nową końcówkę pipety.
 - 4.3 Wzbogaconą próbkę należy przenieść do próbek LS w opisany poniżej sposób:

Najpierw przenieść każdą wzbogaconą próbkę do pojedynczej próbki LS. KU przenieść na końcu.

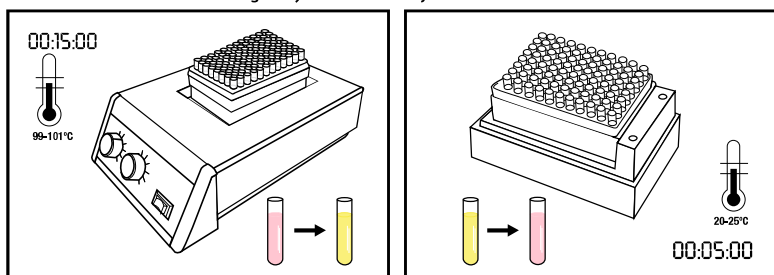
- 4.4 Do zdejmowania korków taśmy z próbkami LS (po jednej taśmie na raz) należy wykorzystać narzędzie 3M™ do zakładania/zdejmowania korków próbek do diagnostyki molekularnej – Liza.
- 4.5 Zdjąć korek próbki LS – jeśli lizat będzie zachowany do celów ponownego wykonania testu, umieścić korki w czystym pojemniku do ponownego założenia po wykonaniu lizy. Odnosnie obróbki zachowanego lisatu patrz Dodatek A.
- 4.6 Przenieść 20 μl próbki do próbki LS, o ile nie podano inaczej w protokole zamieszczonym w tabeli.
5. Powtarzać etap 4.2 do momentu dodania każdej indywidualnej próbki do odpowiedniej próbki LS w taśmie.



6. Należy wykonać ponownie czynności od 4.1 do 4.6 dla wszystkich testowanych próbek.
7. Po przeniesieniu wszystkich próbek przenieść 20 μl KU (jałowe podłoże wzbogacające, np. baza bulionowa pół-Frasera) do próbki LS. Nie stosować wody jako KU.
8. Upewnić się, że temperatura wkładki 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej wynosi $100 \pm 1^\circ\text{C}$.
9. Umieścić odkryty stojak próbek LS we wkładce 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej i ogrzewać przez 15 ± 1 minut. Podczas ogrzewania roztwór LS zmienia barwę z różowej (chłodny) na żółtą (gorący).

Próbki, które nie przeszły odpowiedniej obróbki cieplnej na etapie lizy, można uznać za potencjalne zagrożenie biologiczne i NIE należy ich umieszczać w urządzeniu 3M do diagnostyki molekularnej.

10. Wyjąć odkryty stojak z probówkami LS z bloku grzewczego i umożliwić schłodzenie we wkładce 3M bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej przez co najmniej 5 minut, a maksymalnie 10 minut. Wkładka 3M bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej, stosowana w temperaturze otoczenia bez tacy bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej, powinna znajdować się bezpośrednio na stole laboratoryjnym. Po schłodzeniu roztwór lizujący ponownie przybierze różową barwę.
11. Wyjąć stojak z probówkami LS z wkładki 3M bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej.

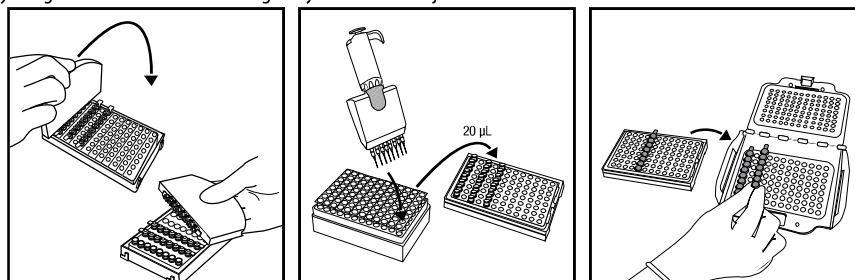


AMPLIFIKACJA

1. Dla każdej próbki i próbki kontroli ujemnej (KU) wymagana jest jedna probówka z reagentem.
 - 1.1 Taśmy z probówkami reagentu można dociąć do żądanej liczby probówek. Zależnie od sytuacji należy dobrać liczbę pojedynczych probówek reagentu lub taśm złożonych z 8 probówek.
 - 1.2 Umieścić probówki reagentu w pustym statywie.
 - 1.3 Nie wolno dopuścić do wstrząśnięcia granulek reagentu na dnie probówek.
2. Wybrać 1 probówkę kontroli reagentu (KR) i umieścić ją w statywie.
3. Aby uniknąć zanieczyszczeń krzyżowych, w danej chwili należy otworzyć jedną taśmę z probówkami reagentu i na każdym etapie przenoszenia stosować nową końcówkę pipety.
4. Przenieść lizat do probówek reagentu i próbki KR w sposób opisany poniżej:

Przenieść **najpierw** lizat każdej próbki do oddzielnych probówek reagentu, a następnie KU. **Na końcu** dodać wody do próbki KR.

5. Do zdejmowania korków probówek reagentu (po jednej taśmie na raz) należy wykorzystać narzędzie 3M™ do zakładania/zdejmowania korków probówek do diagnostyki molekularnej – Reagent. Wyrzucić korek.
 - 5.1 Przenieść 20 µl lizatu próbki w probówce LS do odpowiadającej próbki reagentu. Pipetować pod kątem, aby nie dopuścić do wstrząśnięcia granulek. Delikatnie wymieszać, pobierając i wypuszczając roztwór pipetą 5 razy.
 - 5.2 Powtarzać etap 5.1 do czasu dodania lizatu poszczególnych próbek do odpowiadających probówek reagentu w taśmie.
 - 5.3 Zamknąć probówki reagentu zapewnionym dodatkowym korkiem i użyć zaokrąglonej strony narzędzia 3M do zakładania/zdejmowania korków probówek do diagnostyki molekularnej – Reagent do docięcia korka ruchem do przodu i do tyłu w celu upewnienia się o jego docięciu.
 - 5.4 Krok 5.1 należy powtarzać zależnie od potrzeby dla wszystkich próbek poddawanych badaniu.
 - 5.5 Po przeniesieniu lizatów wszystkich próbek powtarzać etap 4.1, by przenieść 20 µl lizatu KU do próbki reagentu.
 - 5.6 Przenieść **20 µl lizatu KN do próbki KR**. Pipetować pod kątem, aby nie dopuścić do wstrząśnięcia granulek. Delikatnie wymieszać, pobierając i wypuszczając roztwór pipetą 5 razy.
6. Zamknięte korkiem próbki należy umieścić na czystej i odkażonej tacy 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej. Zamknąć i zablokować pokrywę tacy 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej.



7. W oprogramowaniu 3M do diagnostyki molekularnej sprawdzić i potwierdzić konfigurację analizy.
8. Kliknąć przycisk Start oprogramowania i wybrać używane urządzenie. Nastąpi automatyczne otwarcie pokrywy wybranego urządzenia.
9. Aby rozpocząć analizę, należy umieścić tacę 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej w urządzeniu 3M do diagnostyki molekularnej i zamknąć pokrywę. Na wyniki trzeba poczekać 75 minut, choć wyniki pozytywne można uzyskać wcześniej.
10. Po zakończeniu testu należy wyjąć tacę 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej z urządzenia 3M do diagnostyki molekularnej i zutylizować próbki, namaczając je w 1–5% (obj./obj., wodnym) roztworze domowego wybielacza przez 1 godzinę i usuwając z obszaru przygotowania testów.

WAŻNA INFORMACJA: Aby zminimalizować ryzyko otrzymania wyników fałszywie dodatnich w związku z zanieczyszczeniem krzyżowym, nie należy otwierać próbek z reagentem zawierającym DNA po amplifikacji. Dotyczy to próbek z kontrolą reagentu, reagentem i kontrolą macierzy. Zanieczyszczone uszczelnione próbki reagentu 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 przekazuje się w czasie rzeczywistym, zaś wyniki ujemne i polecenie sprawdzenia wyników wyświetlają 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), począwszy od transferu z podstawowego wzbogacenia bazą bulionową do dodatkowego bulionu wzbogacającego (jeżeli dotyczy), a następnie poprzez wyizolowanie i potwierdzenie izolatów za pomocą stosownych metod biochemicznych i serologicznych.

UWAGA: Nawet próbka ujemna nie da odczytu zerowego, jako że system i reagenty do amplifikacji molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *Listeria monocytogenes* mają przypisane własne wartości we względnych jednostkach światła RLU.

W rzadkich przypadkach, przy wystąpieniu nietypowego światła wychodzącego, algorytm opisze je jako „Sprawdzić” (Inspect). Firma 3M zaleca powtórzenie testów dla wszystkich próbek oznaczonych jako „Sprawdzić” (Inspect). Jeżeli utrzymuje się wynik „Sprawdzić” (Inspect), należy przejść do testu potwierdzającego z zastosowaniem preferowanej metody lub zgodnie z lokalnymi przepisami.

W przypadku pytań na temat konkretnych zastosowań lub procedur należy odwiedzić stronę www.3M.com/foodsafety lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy 3M.

BIBLIOGRAFIA:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

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

1. W celu przechowywania lizatu poddanego obróbce cieplnej ponownie zamknąć próbkę z lizatem czystym korkiem (patrz „Liza”, 4.5).
2. Przechowywać w temp. 4 do 8°C maksymalnie przez 72 godziny.
3. Przygotować przechowywaną próbkę do amplifikacji przez odwrócenie 2–3 razy w celu zmieszania.
4. Otworzyć próbki.
5. Umieścić mieszane próbki z lizatem we wkładce 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej i ogrzewać w temp. $100 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 5 ± 1 minut.
6. Wyjąć odkryty stojak z próbkami LS z bloku grzewczego i umożliwić schłodzenie we wkładce 3M bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej przez co najmniej 5 minut, a maksymalnie 10 minut.
7. Kontynuować protokół od etapu „Amplifikacja” wyszczególnionego powyżej.

WYJAŚNIENIE SYMBOLI NA ETYKIEcie PRODUKTU



Przeostroga lub ostrzeżenie, patrz informacje o produkcie.



Należy sprawdzić w informacjach o produkcie.



Partia w pudełku odpowiada numerowi partii.



Po klepsydrze podano miesiąc i rok, stanowiące termin ważności.



Ograniczenia dotyczące temperatur przechowywania.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Инструкции к препарату

Молекулярный анализ 2 - *Listeria monocytogenes*

MDA2LM096

ОПИСАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ ПРОДУКТА

Комплект «3М™ Молекулярный анализ 2 - *Listeria monocytogenes*» используется совместно с системой молекулярной диагностики 3М™ для быстрого и точного обнаружения штаммов листерий в пробах обогащенных продуктов питания и пробах из мест обработки пищи.

В комплектах «3М Молекулярная диагностика» используется петлевая изотермическая амплификация для быстрого расширения нуклеотидных последовательностей с высокой точностью и чувствительностью в сочетании с биолюминесценцией для выявления амплификации. Результаты, которые можно считать положительными, сообщаются исследователю в реальном времени; отрицательные результаты отображаются по окончании анализа. Результаты, которые можно считать положительными, следует подтверждать предпочтительным для вас методом или в соответствии с местными нормативными требованиями^(1, 2, 3).

Комплект «3М Молекулярный анализ 2 - *Listeria monocytogenes*» предназначен для применения в лабораторных условиях и должен использоваться специалистами, прошедшими обучение лабораторным методам работы. Компания 3М документально не подтверждала возможность использования данного оборудования в других отраслях промышленности, кроме отрасли производства продуктов питания и напитков. Например, компания 3М не предусматривает использование этого продукта для исследования водных, фармацевтических, косметических, клинических или ветеринарных проб. Комплект «3М Молекулярный анализ 2 - *Listeria monocytogenes*» не оценивался со всеми возможными протоколами испытаний или со всеми возможными штаммами бактерий.

Как и в случае применения любого метода испытаний, источник обогатительной среды может влиять на результаты испытаний. Компания 3М оценивала комплект «3М Молекулярный анализ 2 - *Listeria monocytogenes*» с применением бульона Фрейзера половинной концентрации, содержащего двойную соль лимоннокислого железа. Типичный состав данной среды приведен ниже.

Типичный состав бульона Фрейзера (г/л) половинной концентрации

Хлорид натрия	20 г
Фосфат натрия, двухосновный, безводный*	9,6 г
Говяжий экстракт	5,0 г
Панкреатический гидролизат казеина	5,0 г
Гидролизат желудочной ткани животного	5,0 г
Экстракт дрожжевого грибка	5,0 г
Хлорид лития	3,0 г
Фосфат калия, одноосновный	1,35 г
Эскулин	1,0 г
Акрифлавина гидрохлорид	0,0125 г
Налидиксовая кислота	0,01 г
* Заменитель: фосфат натрия, двухосновный, дигидрат	12,0 г

Добавка к бульону Фрейзера

(Ингредиенты для пробирки 10 мл. Содержимое одной пробирки добавляют в один литр базальной среды.)

Двойная соль лимоннокислого железа	0,5 г/10 мл
------------------------------------	-------------

Конечный показатель pH $7,2 \pm 0,2$ при 25 °C.

Прибор для молекулярной диагностики 3М™ предназначен для использования совместно с пробами, прошедшими тепловую обработку на этапе лизиса, который проводится с целью уничтожения присутствующих в пробе организмов. Пробы, которые не прошли должную тепловую обработку на этапе лизиса, могут представлять биологическую опасность. Их ЗАПРЕЩАЕТСЯ вставлять в прибор для молекулярной диагностики 3М.

Процессы разработки и производства, используемые в компании 3M Food Safety, прошли проверку и получили сертификат ISO (Международная организация по стандартизации) 9001.

В комплекте «3М Молекулярный анализ 2 - *Listeria monocytogenes*» предусмотрено 96 тестов, описание которых содержится в таблице 1.

Таблица 1. Компоненты комплекта

Номер	Обозначение	Количество	Содержимое	Комментарии
Пробирки с раствором для лизиса	Розовый раствор в прозрачных пробирках	96 (12 пластинок по 8 пробирок на каждой)	580 мкл раствора для лизиса в каждой пробирке	Пробирки находятся в штативе и готовы к применению
Пробирки с реагентами для <i>Listeria monocytogenes</i>	Желтые пробирки	96 (12 пластинок по 8 пробирок на каждой)	Лиофилизированная смесь для амплификации и определения штаммов	Готовы к применению
Запасные колпачки	Желтые колпачки	96 (12 пластинок по 8 колпачков на каждой)		Готовы к применению
Контроль реагентов (RC)	Прозрачные пробирки с контрольно-герметизирующими крышками	16 (2 пакета по 8 пробирок на каждый)	Лиофилизированная контрольная ДНК, смесь для амплификации и выявления штаммов	Готовы к применению
Краткое руководство по началу работы		1		

Отрицательный контроль, не входящий в набор, представляет собой стерильную обогатительную среду, например бульон Фрейзера половинной концентрации. Не используйте воду в качестве среды для отрицательного контроля.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

Прочтите, примите к сведению и соблюдайте все правила техники безопасности, содержащиеся в инструкциях по эксплуатации системы молекулярной диагностики 3М и комплекта «3М Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*». Сохраните инструкции по технике безопасности для дальнейшего использования.

⚠ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ. Указывает на опасную ситуацию, которая может привести к смерти или серьезной травме и/или повреждению имущества.

⚠ ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ. Указывает на опасную ситуацию, которая может привести к травме легкой или средней степени тяжести и/или повреждению имущества.

УВЕДОМЛЕНИЕ. Указывает на потенциально опасную ситуацию, которая может привести к повреждению имущества.

⚠ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Не используйте комплект «3М Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*» при диагностировании заболеваний людей или животных.

При использовании метода «3М Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*» количество бактерий *Listeria monocytogenes* может увеличиться до уровней, достаточных, чтобы привести к рождению мертвого плода, смерти беременной или больного с ослабленным иммунитетом в случае воздействия этих бактерий.

Пользователь несет ответственность за обучение персонала соответствующим методикам проведения анализа, например описанным в своде правил «Надлежащая лабораторная практика» (Good Laboratory Practices), стандарте ISO 17025⁽⁴⁾ или ISO 7218⁽⁵⁾.

Чтобы снизить риски, связанные с выпуском зараженного продукта вследствие ложноотрицательного результата, выполните указанные ниже действия.

- Соблюдайте протокол и выполняйте все исследования в точности, как указано в инструкциях к препарату.
- Храните комплект «3М Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*» согласно указаниям на упаковке и инструкциям к препарату.
- Всегда используйте комплект «3М Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*» до истечения срока годности.
- Комплект «3М Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*» следует использовать для исследования проб продуктов питания и окружающей среды, прошедших внутреннюю или стороннюю проверку.
- Комплект «3М Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*» следует использовать только с теми поверхностями, дезинфицирующими средствами, протоколами и бактериальными штаммами, которые прошли внутреннюю или стороннюю проверку.
- Пробу среды, содержащую нейтрализующий буферный раствор с арил-сульфонатным комплексом, перед проверкой разбавляют в пропорции 1:2 (1 часть пробы, 1 часть стерильного обогатительного бульона). Продукты 3М™ для подготовки проб к анализу, которые содержат нейтрализующий буферный раствор: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XLSL10NB, HS10NB и HS119510NB.

Для снижения рисков, связанных с воздействием химических и биологически опасных веществ, необходимо придерживаться указанных ниже рекомендаций.

- Настоятельно рекомендуется проинформировать лабораторных сотрудников женского пола об опасности развития листериоза у плода вследствие инфицирования матери в результате воздействия *Listeria monocytogenes*.
- Выполняйте исследования на патогены в оборудованной должным образом лаборатории под контролем обученного персонала.
- Необходимо строго соблюдать стандартные правила обеспечения безопасности лаборатории. В частности, сотрудники, работающие с реагентами и загрязненными пробами, должны надевать защитную одежду и очки.
- Следует избегать контактов с обогатительной средой и реагентами по окончании амплификации.
- Уничтожать обогатенные пробы следует в соответствии с действующими промышленными стандартами.

Для снижения рисков, связанных с вторичным загрязнением при подготовке проб, необходимо соблюдать следующие правила.

- Всегда следует надевать перчатки (для защиты пользователя и во избежание введения нуклеаз).

Для снижения рисков, связанных с загрязнением окружающей среды, придерживайтесь перечисленных ниже рекомендаций.

- Следует придерживаться действующих промышленных стандартов в области утилизации загрязненных отходов.

⚠ ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

- Не превышайте рекомендованный показатель температуры в нагревателе.
- Не превышайте рекомендованную продолжительность нагрева.



- Для проверки температуры внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики ЗМ™ следует использовать соответствующим образом откалиброванный термометр (например, термометр частичного погружения или термопарный цифровой термометр, но не термометр полного погружения.) Термометр следует вставить в специально отведенное место на внутреннем нагревательном блоке для молекулярной диагностики ЗМ.

УВЕДОМЛЕНИЕ

Для снижения рисков, связанных с вторичным загрязнением при подготовке проб, необходимо соблюдать следующие правила.

- Рекомендуется использовать стерильные, аэрозоль-устойчивые (фильтрующие) наконечники для пипеток, применяемые в молекулярной биологии.
- Используйте пипетку с новым наконечником для переноса каждой пробы.
- Используйте свод правил «Надлежащая лабораторная практика» (Good Laboratory Practices) для переноса пробы из среды обогащения в пробирку с раствором для лизиса. Во избежание загрязнения микродозатора можно использовать дополнительный этап переноса. Например, пользователь может перенести каждую обогащенную пробу в стерильную пробирку.
- По возможности для исследований следует использовать столы для работ в области молекулярной биологии, оборудованные бактерицидными лампами.

Для снижения рисков, связанных с получением ложноположительных результатов, нужно соблюдать следующие правила.

- Ни в коем случае не следует открывать пробирки после амплификации.
- Всегда утилизируйте зараженные пробирки путем погружения и удерживания в растворе бытового отбеливателя 1–5 % (объемное содержание в воде) в течение 1 часа вне зоны подготовки пробы.

Дополнительные сведения и местные правила утилизации отходов см. в паспортах безопасности материалов.

Если у вас возникли вопросы по определенному применению или методикам, посетите наш веб-сайт по адресу www.3M.com/foodsafety или обратитесь к местному представителю или дистрибьютору компании 3М.

ОГРАНИЧЕНИЕ ГАРАНТИЙ / ОГРАНИЧЕННАЯ ЗАЩИТА ПРАВ

ЕСЛИ ИНОЕ ЯВНО НЕ УКАЗАНО В РАЗДЕЛЕ ОБ ОГРАНИЧЕННОЙ ГАРАНТИИ НА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ УПАКОВКЕ ПРОДУКТА, ЗМ НЕ ПРИЗНАЕТ ПРЯМЫЕ ИЛИ КОСВЕННЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА, ВКЛЮЧАЯ ПОМИМО ПРОЧЕГО, ГАРАНТИЮ ТОВАРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИЛИ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СООТВЕТСТВИИ С УКАЗАННОЙ ОБЛАСТЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ. Если качество продукта отдела безопасности пищевой продукции компании 3М не является надлежащим, компания 3М или уполномоченный этой компанией дистрибьютор обязуется по своему усмотрению заменить этот продукт или возместить стоимость покупки этого продукта. Это единственный способ разрешения спора. О возможном дефекте необходимо немедленно уведомить компанию 3М в течение шестидесяти дней с момента его обнаружения, после чего вернуть продукт в компанию 3М. Для санкционирования возврата товара позвоните в Службу поддержки клиентов (1-800-328-1671 в США) или своему официальному представителю отдела Контроля возврата компании 3М.

ОГРАНИЧЕНИЕ ОТВЕТСТВЕННОСТИ КОМПАНИИ ЗМ

ЗМ НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА УЩЕРБ ИЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ЯВЛЯЮЩИЕСЯ ПРЯМЫМИ, НЕПРЯМЫМИ, УМЫШЛЕННЫМИ, СЛУЧАЙНЫМИ ИЛИ КОСВЕННЫМИ, ВКЛЮЧАЯ ПОМИМО ПРОЧЕГО УТРАЧЕННУЮ ПРИБЫЛЬ. Ответственность компании 3М ни при каких обстоятельствах и несмотря ни на какие требования не может превышать стоимость продукта.

ОБЯЗАННОСТИ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Пользователи несут полную ответственность за ознакомление с инструкциями и информацией об использовании продукта. Для получения более подробной информации посетите наш веб-сайт по адресу www.3M.com/foodsafety либо свяжитесь с вашим местным представителем или дистрибьютором 3М.

При выборе метода исследования важно понимать, что на результаты исследования могут влиять внешние факторы, например метод забора проб, протокол исследования, подготовка проб к исследованию, способы обработки проб во время исследования, а также используемое оборудование.

За выбор метода исследования и исследуемого продукта отвечает пользователь. Пользователь должен на основании исследования достаточного количества образцов с помощью надлежащих матриц и микробных провокационных проб определить, отвечает ли выбранный метод исследования необходимым ему критериям.

Пользователь также несет ответственность за то, что выбранный им метод исследования отвечает требованиям его клиентов или поставщиков.

Результаты, полученные с помощью продукта 3М Food Safety (как и при использовании любого другого метода исследований), не гарантируют качество матриц или технологических процессов, подвергавшихся исследованиям.

Чтобы помочь клиентам оценить метод применительно к различным пищевым матрицам, компания 3М разработала комплект «Контроль матрицы для молекулярной диагностики ЗМ™». При необходимости используйте контроль матрицы (МС), чтобы определить, может ли матрица повлиять на результаты тестов из комплекта «ЗМ Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*». Проверьте несколько образцов матриц, т. е. образцов различного происхождения, в течение любого периода проверки, во время использования метода ЗМ или проверки новых, неизвестных матриц, либо матриц, материал или процесс обработки которых подвергся изменениям.

Матрицу можно определить как тип продукта с внутренними свойствами, такими как состав и обработка. Различия между матрицами могут быть вызваны просто различиями в их обработке или состоянии. Например, сырые или пастеризованные, свежие или высушенные и т. п.

ХРАНЕНИЕ И УТИЛИЗАЦИЯ

Комплект «ЗМ Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*» следует хранить при температуре 2–8 °С. Не замораживать. Хранить комплект необходимо в темном месте. После открытия комплекта следует убедиться в отсутствии повреждений в пакете из фольги. Если пакет поврежден, использовать оборудование запрещено. Открытые неиспользуемые пробирки с реагентами необходимо хранить в повторно герметизируемом пакете с влагопоглотителем. Это обеспечивает стабильность лиофилизированных реагентов. Повторно герметизируемые пакеты следует хранить при температуре 2–8 °С не более 60 дней.

Не используйте комплект «ЗМ Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*» по истечении срока годности. Дата истечения срока годности и номер партии комплекта указаны на бирке, присутствующей на наружной поверхности коробки с оборудованием. После применения обогатительная среда и пробирки для проведения тестов из комплекта «ЗМ Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*» могут содержать болезнетворные микроорганизмы. По окончании испытаний следует утилизировать загрязненные отходы согласно принятым промышленным стандартам. Дополнительные сведения и местные правила утилизации отходов см. в паспортах безопасности материалов.

ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Строго соблюдайте все инструкции. В противном случае результаты могут быть неточными.

Следует проводить периодическую дезинфекцию лабораторных столов и оборудования (пипеток, инструментов для запечатывания и распечатывания пробирок и т. д.). Для этого следует использовать раствор бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) или раствор для удаления ДНК.

ОБОГАЩЕНИЕ ПРОБЫ

В таблице 2 приведены инструкции по обогащению проб продуктов питания и окружающей среды. Пользователь отвечает за проверку альтернативных протоколов отбора проб или степеней разбавления для соответствия этих методов тестирования критериям пользователя.

Пищевые продукты

1. Подождите, пока температура бульона Фрейзера половинной концентрации (содержит двойную соль лимоннокислого железа) не достигнет температуры окружающей среды в лаборатории.
2. Соедините обогатительную среду и пробу в стерильных условиях в соответствии с таблицей 2. При исследовании проб мяса и чрезвычайно разрозненных образцов рекомендуется использовать мешочные фильтры.
3. Добейтесь однородности исследуемого раствора, тщательно перемешивая его в мешалке, гомогенизаторе или вручную в течение $2 \pm 0,2$ минут. Инкубируйте при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ (см. таблицу 2).
4. При исследовании сырых молочных продуктов перенесите 0,1 мл первичного обогащенного вещества в 10 мл бульона Фрейзера. Инкубируйте при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 20–24 часов.

Пробы из окружающей среды

Для сбора проб можно использовать губку, смоченную в нейтрализующем растворе, который инактивирует дезинфицирующие средства. Компания 3М рекомендует применять небиоцидные целлюлозные губки. В качестве нейтрализующего раствора можно использовать нейтрализующий бульон Ди-Ингли или летиновый бульон. Рекомендуется дезинфицировать область отбора проб по окончании отбора.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ. В случае применения для смачивания губки нейтрализующего буферного раствора, содержащего арил-сульфонатный комплекс, перед испытанием обогатительную пробу среды необходимо растворить в отношении 1:2 (1 часть пробы в 1 части стерильного обогатительного бульона) для снижения рисков, связанных с получением ложноотрицательных результатов и выпуском загрязненных продуктов.

Рекомендуемый размер области отбора проб для проверки наличия или отсутствия патогенов на поверхности составляет 100 см^2 (10 x 10 см или 4 x 4 дюйма). При отборе проб с помощью губки следует провести губкой по всей области отбора проб в двух направлениях (слева направо и сверху вниз). Помимо этого, при отборе проб среды можно придерживаться действующего протокола или рекомендаций FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ или стандарта ISO 18593⁽⁶⁾.

1. Подождите, пока температура бульона Фрейзера половинной концентрации (содержит двойную соль лимоннокислого железа) не достигнет температуры окружающей среды в лаборатории.
2. Соедините обогатительную среду и пробу в стерильных условиях в соответствии с таблицей 2.
3. Добейтесь однородности исследуемого раствора, тщательно перемешивая его в мешалке, гомогенизаторе или вручную в течение $2 \pm 0,2$ минут. Инкубируйте при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24–30 часов.



Таблица 2. Протоколы обогащения с использованием бульона Фрейзера половинной концентрации для обогащения

Матрица пробы	Размер пробы	Объем обогатительного бульона (мл)	Температура обогащения (°C)	Время обогащения (ч)				
Термообработанное, вареное, консервированное мясо, птица, морепродукты и рыба Термообработанные или пастеризованные молочные продукты Овощи Многокомпонентные продукты	25 г	225	37	24–30				
Пробы из окружающей среды	1 губка	100 или 225	37	24–30				
	1 тампон	10	37	24–30				
Сырое мясо, птица, морепродукты, рыба	25 г	475	37	28–32				
Матрица пробы	Первичное обогащение (бульон Фрейзера половинной концентрации)				Вторичное обогащение (бульон Фрейзера)			Объем анализа проб ^(a)
	Размер пробы	Объем обогатительного бульона (мл)	Температура обогащения (°C)	Время обогащения (ч)	Размер пробы	Температура обогащения (°C)	Время обогащения (ч)	
Сырье молочные продукты	25 г	225	37	20–24	Переместите 0,1 мл в 10 мл бульона Фрейзера	37	20–24	10 мкл

(а) Объем образцов, перемещенных в пробирки с раствором для лизиса. См. шаг 4.6 раздела «Лизис».

ПОДГОТОВКА ЛОТКА БЫСТРОЙ ЗАГРУЗКИ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗМ™

1. Смочите тканевую салфетку в растворе бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) и протрите этой тканевой салфеткой лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ™.
2. Ополосните лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ водой.
3. Протрите лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ досуха одноразовым полотенцем.
4. Перед использованием лотка быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ убедитесь в том, что он сухой. **ПОДГОТОВКА БЛОКА «ЗМ™ МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА. ОХЛАДИТЕЛЬНЫЙ БЛОК (ВСТАВНОЙ)»**

Поместите блок «ЗМ™ Молекулярная диагностика. Охлаждающий блок (вставной)» на лабораторный стол (лоток «ЗМ™ Молекулярная диагностика. Лоток для охлаждающего блока» не используется). Охлаждающий блок следует использовать при температуре окружающей среды в лаборатории (20–25 °C).

ПОДГОТОВКА ВНУТРЕННЕГО НАГРЕВАТЕЛЬНОГО БЛОКА ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗМ™

Поместите внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики ЗМ™ в сухое блочное нагревательное устройство. Включите сухое нагревательное устройство и установите температуру внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики ЗМ на 100 ± 1 °C.

ПРИМЕЧАНИЕ. Внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики ЗМ достигает нужной температуры примерно за 30 минут (в зависимости от типа нагревательного устройства). Используя подходящий откалиброванный термометр (например, термометр частичного погружения или термопарный цифровой термометр, но не термометр полного погружения), размещенный в указанном месте, убедитесь, что температура внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики ЗМ составляет 100 ± 1 °C.

ПОДГОТОВКА ПРИБОРА ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗМ™

1. Запустите программное обеспечение для молекулярной диагностики ЗМ™ и войдите в систему.
2. Включите прибор для молекулярной диагностики ЗМ.
3. Создайте или измените цикл с данными относительно каждой пробы. Более подробные сведения см. в руководстве пользователя системы молекулярной диагностики ЗМ.

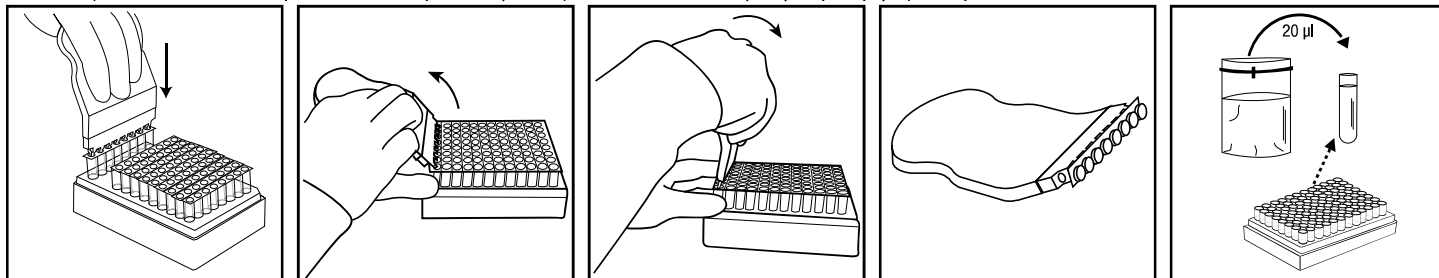
ПРИМЕЧАНИЕ. Прежде чем вставить лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ с реакционными пробирками в прибор для молекулярной диагностики ЗМ, в приборе должна установиться постоянная температура 60 °C. Стадия нагревания прибора длится приблизительно 20 минут. На то, что прибор находится в этой стадии, указывает ОРАНЖЕВЫЙ сигнал на панели состояния прибора. Когда прибор будет готов к запуску цикла, цвет панели состояния изменится на ЗЕЛЕНЫЙ.

ЛИЗИС

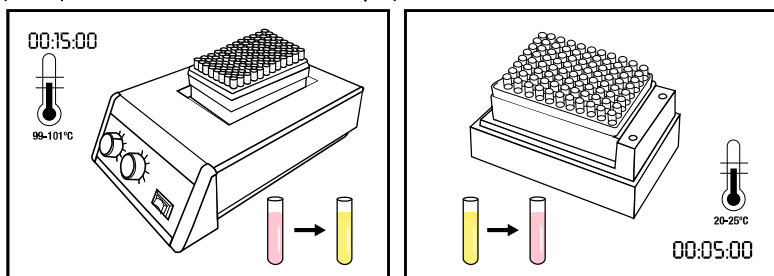
1. Пробирки с раствором для лизиса (LS) должны нагреться. Для этого оставьте штатив с пробирками в условиях с комнатной температурой (20–25 °C) на ночь (16–18 часов). Другой способ довести пробирки с раствором для лизиса до комнатной температуры: поместить их на лабораторный стол минимум на 2 часа, оставить их для инкубации при температуре 37 ± 1 °C на 1 час или поместить их в сухое двухблочное нагревательное устройство на 30 секунд при температуре 100 °C.
2. Максимум за 4 часа до использования переверните запечатанные пробирки для смешивания содержимого.
3. Извлеките обогатительный бульон из инкубатора.
4. На каждую пробу и образец для отрицательного контроля (NC) необходимо использовать по одной пробирке с раствором для лизиса (стерильная обогатительная среда).
 - 4.1 Для получения необходимого количества пробирок с раствором для лизиса пластинки с пробирками можно разрезать. Выберите необходимое количество отдельных пробирок или пластинок с 8 пробирками с раствором для лизиса. Поставьте пробирки с раствором для лизиса в пустой штатив.
 - 4.2 Во избежание вторичного загрязнения распечатывать пробирки с раствором для лизиса на каждой пластинке следует по очереди, а перед каждым этапом переноса проб необходимо менять наконечник для пипетки.
 - 4.3 Перенесите обогащенные пробы в пробирки с раствором для лизиса согласно следующему описанию.

В первую очередь перенесите каждую обогащенную пробу в отдельную пробирку с раствором для лизиса. Отрицательный контроль необходимо перенести **в последнюю очередь**.

- 4.4 Для распечатывания пластинок с пробирками с раствором для лизиса используйте инструмент «3М™ Молекулярная диагностика. Инструмент для запечатывания/распечатывания пробирок (Лизис)». Пластинок с пробирками следует распечатывать по очереди.
 - 4.5 Выбросьте колпачок от пробирки с раствором для лизиса. Если лизат необходимо сохранить для повторного испытания, поместите колпачки в чистый контейнер для повторного использования после лизиса. Процедура обработки сохраненного лизата описана в приложении А.
 - 4.6 Перенесите 20 мкл образца в пробирку с раствором для лизиса, если другое не указано в таблице протокола.
5. Повторяйте шаг 4.2 до тех пор, пока каждая проба не будет перенесена в соответствующую пробирку с раствором для лизиса на пластинке.



6. Повторите шаги 4.1–4.6 столько раз, сколько проб необходимо исследовать.
7. После переноса всех образцов, переместите 20 мкл отрицательного контроля (стерильная обогатительная среда, например бульон Фрейзера половинной концентрации) в пробирку с раствором для лизиса. Не используйте воду в качестве среды для отрицательного контроля.
8. Убедитесь в том, что температура внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики 3М составляет 100 ± 1 °C.
9. Поместите штатив с открытыми пробирками с раствором для лизиса во внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики 3М и нагревайте штатив в течение 15 ± 1 минут. Во время тепловой обработки цвет раствора для лизиса изменится с розового (холодный) на желтый (горячий).
Пробы, которые не прошли должную тепловую обработку на этапе лизиса, могут представлять биологическую опасность. Их ЗАПРЕЩАЕТСЯ вставлять в прибор для молекулярной диагностики 3М.
10. Извлеките штатив с открытыми пробирками с раствором для лизиса из нагревательного блока и поместите его для охлаждения в блоке «3М Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)» минимум на 5 минут, максимум на 10 минут. Блок «3М Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)», используемый при температуре окружающей среды без лотка «Молекулярная диагностика. Лоток для охлаждающего блока», должен находиться непосредственно на лабораторном столе. После охлаждения цвет раствора для лизиса снова станет розовым.
11. Извлеките штатив с пробирками с раствором для лизиса из блока «3М Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)».



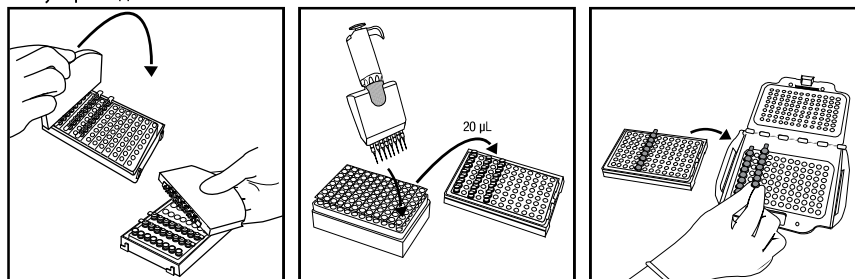
АМПЛИФИКАЦИЯ

1. На каждую пробу и образец для отрицательного контроля необходимо использовать по одной пробирке с реагентами.
 - 1.1 Для получения необходимого количества пробирок с реагентами пластинки с пробирками можно разрезать. Выберите необходимое количество отдельных пробирок с реагентами или пластинок с 8 пробирками.

- 1.2 Поместите пробирки с реагентом в пустой штатив.
- 1.3 Не тревожьте осадок от реагентов на дне пробирок.
2. Выберите 1 пробирку с контролем реагентов (RC) и поместите ее в штатив.
3. Во избежание вторичного загрязнения распечатывать пробирки с реагентами на каждой пластинке следует по очереди, а перед каждым этапом переноса проб необходимо менять наконечник для пипетки.
4. Перенесите лизат в пробирки с реагентом и пробирку с контролем реагентов, как описано ниже.

В первую очередь следует перенести лизат всех проб в отдельные пробирки с реагентами. Затем необходимо перенести отрицательный контроль. Гидратировать пробирку с контролем реагентов необходимо **в последнюю очередь**.

5. Распечатывайте пробирки с реагентами с помощью инструмента «ЗМ™ Молекулярная диагностика. Инструмент для запечатывания/распечатывания пробирок (Реагент)». Необходимо распечатывать пробирки на одной пластинке за раз. Утилизируйте колпачки.
 - 5.1 Перенесите 20 мкл лизата пробы в пробирке с раствором для лизиса в соответствующую пробирку с реагентом. Переносить лизат в пробирку следует под определенным углом, чтобы не потревожить осадок. Перемешайте лизат в пробирке с помощью пипетки (наберите и выпустите жидкость из пипетки 5 раз).
 - 5.2 Повторяйте шаг 5.1 до тех пор, пока лизат избранной пробы не будет перенесен в соответствующую пробирку с реагентами на пластинке.
 - 5.3 Закройте пробирки с реагентами запасными колпачками и воспользуйтесь округлой стороной инструмента «ЗМ Молекулярная диагностика. Инструмент для запечатывания/распечатывания пробирок (Реагент)» для подачи давления движением туда и обратно, чтобы узнать, хорошо ли закрыты пробирки.
 - 5.4 Повторите шаг 5.1 столько раз, сколько проб необходимо исследовать.
 - 5.5 После переноса лизатов всех проб в соответствующие пробирки повторите шаг 4.1, чтобы перенести 20 мкл лизата отрицательного контроля в пробирку с реагентом.
 - 5.6 Перенесите **20 мкл лизата отрицательного контроля в пробирку с контролем реагентов**. Переносить лизат в пробирку следует под определенным углом, чтобы не потревожить осадок. Перемешайте лизат в пробирке с помощью пипетки (наберите и выпустите жидкость из пипетки 5 раз).
6. Загрузите запечатанные пробирки в чистый продезинфицированный лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ. Закройте и зафиксируйте крышку лотка быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ.



7. Проверьте параметры настройки цикла в программном обеспечении для молекулярной диагностики ЗМ.
8. Нажмите кнопку Start (Запуск) в программном обеспечении. Выберите прибор, который требуется использовать. Крышка выбранного прибора откроется автоматически.
9. Поместите лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ в прибор для молекулярной диагностики ЗМ и закройте крышку, чтобы начать анализ. Результаты появятся в течение 75 минут. Положительные результаты могут появиться раньше.
10. По окончании анализа извлеките лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ из прибора для молекулярной диагностики ЗМ и поместите пробирки в раствор бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) на 1 час вдали от зоны проведения анализа.

УВЕДОМЛЕНИЕ. Для минимизации риска получения ложноположительных результатов вследствие вторичного загрязнения ни в коем случае не следует открывать пробирки с реагентами, содержащие амплифицированную ДНК. В число таких пробирок входят пробирки с контролем реагентов, реагентами проб и контролем матрицы. Запечатанные пробирки с реагентами следует выдерживать в растворе бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) в течение 1 часа вдали от зоны проведения анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Специальный алгоритм интерпретирует кривую световой отдачи, построенную в результате выявления амплификации нуклеотидных последовательностей. Программное обеспечение автоматически анализирует полученные данные и снабжает их цветовыми кодами. Анализ уникальных параметров кривой позволяет получить положительный или отрицательный результат. Результаты, которые можно считать положительными, сообщаются исследователю в реальном времени; отрицательные результаты и данные, требующие изучения, отображаются по окончании цикла.

Результаты, которые можно считать положительными, следует подтверждать в соответствии со стандартными лабораторными процедурами или в соответствии с подходящим стандартным методом^(1,2,3), начиная с переноса из первичной среды обогащения во вторичный обогатительный бульон с последующим культивированием и подтверждением изолятов с использованием соответствующих биохимических и серологических методов.

ПРИМЕЧАНИЕ. Результаты анализа не могут быть нулевыми даже в случае исследования отрицательной пробы, поскольку система и амплификационные реагенты тестов из комплекта «ЗМ Молекулярный анализ 2 – *Listeria monocytogenes*» обладают «фоновой» относительной световой единицей.

В редких случаях получения необычных световых данных алгоритм заносит соответствующие результаты в категорию информации, требующей изучения. Компания 3М рекомендует проводить повторный анализ проб, требующих изучения. Если результат анализа не меняется, проверьте его предпочтительным для вас методом или в соответствии с местными нормативными требованиями

Если у вас возникли вопросы по определенному применению или методикам, посетите наш веб-сайт по адресу www.3M.com/foodsafety или обратитесь к местному представителю или дистрибьютору компании 3М.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА.

1. Администрация США по пищевым продуктам и лекарственным веществам. Руководство по бактериологическому анализу. Глава 10. Качественный и количественный анализ *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах. Раздел С-6. Версия от апреля 2011 года.
2. Лабораторное руководство по микробиологии 8.08 Службы безопасности и контроля продуктов питания Министерства сельского хозяйства США (USDA). Изоляция и идентификация *Listeria monocytogenes* в красном мясе, домашней птице, яйцах и пробах среды. Дата вступления в силу: 6 ноября 2012 года.
3. ISO 11290-1. Микробиология пищевых продуктов и животных кормов. Горизонтальный метод количественного анализа на бактерию *Listeria monocytogenes*. Дополнение 1 от 15.10.2004 г.
4. ISO/IEC 17025. Общие требования к выполнению испытательными и калибровочными лабораториями своих функций.
5. ISO 7218. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие правила микробиологического анализа.
6. ISO 18593. Микробиология пищи и кормов для животных. Горизонтальные методы забора проб с поверхностей с помощью пластин и тампонов.

Приложение А. Прерывание протокола: хранение и повторное тестирование лизатов, подвергшихся термообработке

1. Для хранения подвергшихся термообработке лизатов запечатайте пробирку с раствором для лизиса новым колпачком (см. раздел 4.5 «Лизис»)
2. Храните при температуре от 4 до 8 °C до 72 часов.
3. Подготовьте сохраненную пробу для амплификации, перевернув пробирку 2–3 раза для смешивания.
4. Распечатайте пробирки.
5. Поместите пробирки со смешанным лизатом во внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики 3М и подогревайте до температуры 100 ± 1 °C в течение 5 ± 1 минут.
6. Извлеките штатив с открытыми пробирками с раствором для лизиса из нагревательного блока и поместите его для охлаждения в блоке «3М Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)» минимум на 5 минут, максимум на 10 минут.
7. Продолжайте протокол в соответствии с разделом «Амплификация», описанном выше.

ПОЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ НА НАКЛЕЙКАХ НА ПРОДУКТЕ



Предостережение или предупреждение (см. инструкции к препарату).



См. инструкции к препарату.



В прямоугольнике указан номер партии.



После символа песочных часов указываются месяц и год, которые представляют собой дату истечения срока годности.



Ограничение температуры при хранении.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Ürün Talimatları

MDA2LM096

Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2

ÜRÜN AÇIKLAMASI VE KULLANIM AMACI

3M™ Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2, zenginleştirilmiş gıda ve çevre numunelerinde *Listeria* türlerinin hızlı ve spesifik tespiti için 3M™ Moleküler Tayin Sistemi ile birlikte kullanılır.

3M Moleküler Tayin Testleri'nde, nükleik asit dizinlerinin yüksek özgüllük ve duyarlılıkla hızlı amplifikasyonu için döngü aracılı izotermal amplifikasyon ile birlikte amplifikasyonun tayin edilmesi amacıyla biyoluminesans kullanılır. Negatif sonuçlar test tamamlandıktan sonra gösterilirken, olası pozitif sonuçlar gerçek zamanlı olarak bildirilir. Olası pozitif sonuçlar, tercih ettiğiniz yöntemi kullanarak veya yerel düzenlemelerde belirtildiği şekilde doğrulanmalıdır^(1, 2, 3).

3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2, laboratuvar teknikleri konusunda eğitim almış uzmanlar tarafından laboratuvar ortamında kullanılmak üzere tasarlanmıştır. 3M, bu ürünü yiyecek veya içecek endüstrileri dışındaki kullanımını tescil ettirmemiştir. Örneğin, 3M bu ürünün su, farmasötik ürünler, kozmetik malzemeler, klinik veya veterinerlik amaçlı numunelerin testlerinde kullanımına yönelik tescil ettirmemiştir. 3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2 olası tüm test protokolleri veya olası tüm bakteri suşlarıyla değerlendirilmemiştir.

Tüm test yöntemlerinde olduğu gibi, zenginleştirme besiyerinin kaynağı sonuçları etkileyebilir. 3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2, 3M tarafından Demir Amonyum Sitrat içeren Demi Fraser Broth ile değerlendirilmiştir. Bu besiyerinin tipik bileşiminde aşağıdakiler bulunur.

Demi-Fraser Broth Tipik Formülü (g/L)

Sodyum Klorür	20 g
Sodyum Fosfat, dibazik, anhidroz*	9,6 g
Sığır Eti Ekstraktı	5,0 g
Pankreatik Kazein Dijesti	5,0 g
Hayvan Dokusu Peptik Dijesti	5,0 g
Maya Ekstraktı	5,0 g
Lityum Klorür	3,0 g
Potasyum Fosfat, monobazik	1,35 g
Eskülin	1,0 g
Akriflavin HCl	0,0125 g
Nalidiksik Asit	0,01 g
* Muadili: Sodyum Fosfat, dibazik, dihidrat	12,0 g

Fraser Broth Takviyesi

(Her bir 10 ml şişe için içerik. Bir şişe, bir litre bazal besiyerine eklenir.)

Demir Amonyum Sitrat 0,5 g/10 ml

Nihai pH 7,2 ± 0,2; 25°C'de

3M™ Moleküler Tayin Cihazı, numune içinde var olan organizmaları yok etmek için tasarlanmış test lizis aşaması sırasında ısı işleminden geçen numuneler ile kullanım için tasarlanmıştır. Test lizis aşaması sırasında doğru şekilde ısı işleme tabi tutulmayan numuneler, olası bir biyolojik tehlike olarak düşünülebilir ve 3M Moleküler Tayin Cihazı'na KONULMAMALIDIR.

3M Gıda Güvenliği, ISO (Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı) 9001 tasarım ve üretim sertifikasına sahiptir.

3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2 test kiti, Tablo 1'de açıklanmış olduğu gibi 96 test içerir.

Tablo 1. Kit Bileşenleri

Malzeme	Tanım	Miktar	İçerik	Açıklamalar
Lizis Solüsyonu (LS) tüpleri	Şeffaf tüplerde pembe solüsyon	96 (8 tüplük 12 strip)	Tüp başına 580 µL LS	Rafli ve kullanıma hazır
<i>Listeria monocytogenes</i> Reaktif tüpleri	Sarı tüpler	96 (8 tüplük 12 strip)	Liyofilize spesifik amplifikasyon ve tayin karışımı	Kullanıma hazır
İlave kapaklar	Sarı kapaklar	96 (8 kapaklık 12 strip)		Kullanıma hazır
Reaktif Kontrolü (RC)	Şeffaf üstten kapatmalı tüpler	16 (8 ayrı tüp içeren 2 poşet)	Liyofilize kontrol DNA'sı, amplifikasyon ve tayin karışımı	Kullanıma hazır
Hızlı Başlangıç Kılavuzu		1		

Kitin içinde sunulmayan Negatif Kontrol, steril zenginleştirici besiyeridir, örneğin, Demi-Fraser Broth. Negatif Kontrol olarak su kullanmayın.



GÜVENLİK

Kullanıcı, 3M Moleküler Tayin Sistemi ve 3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2 yönelik talimatlarda yer alan tüm güvenlik bilgilerini okumalı, anlamalı ve bunlara uymalıdır. Güvenlik talimatlarını ileride başvurmak üzere saklayın.

- ⚠ **UYARI:** Kaçınılması halinde, ölüm ya da ciddi yaralanma ve/veya mal zararı ile sonuçlanabilen tehlikeli bir durumu gösterir.
- ⚠ **DİKKAT:** Önlenmemesi halinde, küçük veya orta dereceli yaralanma ve/veya mala zarar gelmesiyle sonuçlanabilecek tehlikeli bir durumu gösterir.
- NOT:** Kaçınılması halinde, maddi zarar ile sonuçlanabilen olası tehlikeli bir durumu gösterir.

⚠ UYARI

3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2'i insanların veya hayvanların sağlık durumlarının tanısında kullanmayın.

3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2 yöntemi, maruz kalınması halinde, hamile kadınlarda ve immün sistemi zayıflamış olanlarda, ölü doğum ve ölümcül olaylara neden olmaya yetecek düzeylerde *Listeria monocytogenes* üretebilir.

Kullanıcının güncel ve doğru test teknikleri konusunda personeli eğitmesi gereklidir: örneğin, İyi Laboratuvar Uygulamaları, ISO 17025⁽⁴⁾ veya ISO 7218⁽⁵⁾.

Kontamine olmuş ürünün serbest bırakılmasına yol açacak yanlış bir negatif sonuçla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Tam olarak ürün talimatlarında belirtildiği şekilde protokolü uygulayın ve testleri gerçekleştirin.
- 3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2'i ambalaj üzerinde ve ürün talimatlarında belirtildiği şekilde saklayın.
- 3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2'i mutlaka son kullanma tarihinden önce kullanın.
- 3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2'i, dahili olarak veya üçüncü bir tarafça valide edilmiş gıda ve çevre numuneleriyle birlikte kullanın.
- 3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2'i sadece dahili olarak veya üçüncü bir tarafça valide edilmiş yüzeyler, sanitizeler, protokoller ve bakteri suşları ile kullanın.
- Aril sülfonat kompleksi ile birlikte Nötralizasyon Tamponu içeren bir çevre numunesi için, test etmeden önce 1:2 dilüsyon gerçekleştirin (1 birim steril zenginleştirme besiyeri içine 1 birim numune). Nötralizasyon tamponu içeren 3M™ numune işleme ürünleri. BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB ve HS119510NB.

Kimyasallara ve biyolojik tehlikelere maruziyet ile ilişkili riskleri azaltmak için:

- Laboratuvar ekibindeki bakanların, *Listeria monocytogenes*'e maruziyet nedeniyle annenin enfeksiyonu dolayısıyla gelişmekte olan fetus için risk oluşturduğu konusunda bilgilendirilmeleri şiddetle tavsiye edilir.
- Patojen testini doğru şekilde donatılmış bir laboratuvar, eğitimli personelin kontrolü altında gerçekleştirin.
- Reaktifleri ve kontamine olmuş numuneleri işleme tabi tutuyorken daima, uygun koruyucu kıyafet giyerek ve koruyucu gözlük takarak standart laboratuvar güvenlik uygulamalarına uyun.
- Amplifikasyon sonrasında zenginleştirme ortamı ve reaktif tüplerinin içeriği ile temastan kaçının.
- Zenginleştirilmiş numuneleri, geçerli endüstriyel standartlara göre imha edin.

Testi hazırlarken, çapraz kontaminasyonla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Daima eldiven takın (kullanıcıyı korumak ve nükleazların girişini önlemek için).

Çevre kontaminasyonu ile ilişkili riskleri azaltmak için:

- Kontamine atığın atılması için geçerli endüstriyel standartlara uyun.

⚠ DİKKAT

- Isıttıcıdaki önerilen sıcaklık ayarını geçmeyin.
- Önerilen ısıtma süresini geçmeyin.
- 3M™ Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası sıcaklığını doğrulamak için uygun ve kalibre edilmiş bir termometre kullanın (örneğin, tamamen daldırma tipi termometre değil, kısmi daldırma tipi termometre veya dijital ısı çift termometre.) Termometre, 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nda belirlenmiş olan konuma yerleştirilmelidir.

NOT

Testi hazırlarken, çapraz kontaminasyonla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Steril, aerosol bariyerli (filtreli), moleküler biyoloji sınıfı pipet uçlarının kullanılması tavsiye edilir.
- Her numune aktarımı için yeni bir pipet ucu kullanın.
- Numunenin zenginleştirilmiş besiyerinden lizis tüpüne aktarılması için İyi Laboratuvar Uygulamalarını kullanın. Pipeti kullanacak kişinin kontaminasyona maruz kalmasından kaçınmak için, kullanıcı ara bir aktarım adımı eklemeyi seçebilir. Örneğin, kullanıcı zenginleştirilmiş her numuneyi steril bir tüpe aktarabilir.
- Mevcut olduğu yerde, germisidal lamba içeren bir moleküler biyoloji çalışma tezgahı kullanın.

Yanlış pozitif sonuçla ilgili riskleri azaltmak için:

- Amplifikasyon sonrasında tüpleri hiçbir zaman açmayın.
- Kontamine olmuş tüpleri, her zaman %1-5'lik (suda v:v) bir çamaşır suyu çözeltisinde 1 saat süresince bekleterek ve test hazırlık alanından uzakta imha edin.

Ek bilgiler ve ürünün imha edilmesi ile ilgili yerel düzenlemeler için Güvenlik Veri Formu'na bakın.

Belirli uygulamalar veya prosedürler hakkında sorularınız varsa, lütfen www.3M.com/foodsafety adresindeki internet sitemizi ziyaret edin veya yerel 3M temsilcisi ya da distribütörü ile irtibat kurun.

GARANTİLERİN SINIRLANDIRILMASI / SINIRLI ÇÖZÜM

3M, HER BİR ÜRÜN AMBALAJININ ÜZERİNDEKİ SINIRLI GARANTİ KISMINDA AÇIKÇA BELİRTİLENLER HARİCİNDE, PAZARLANABİLİRLİK VEYA BELİRLİ BİR KULLANIMA UYGUNLUK GARANTİLERİ DAHİL ANCAK BUNLARLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE HİÇBİR AÇIK VEYA ZİMNİ GARANTİYİ KABUL ETMEMEKTEDİR. Herhangi bir 3M Gıda Güvenlik Ürünü'nün kusurlu olması durumunda, 3M veya yetkili dağıtıcısı, tercihinin göre ürünü değiştirecek veya ürün satış tutarını iade edecektir. Tarafınıza münhasır çözümler bunlardır. Üründe mevcut olduğundan kuşku duyulan herhangi bir kusurun fark edilmesinden sonraki altmış gün içinde durumu 3M'e bildiriniz veya ürünü 3M'e iade ediniz. Mal İade İzni almak için lütfen Müşteri Hizmetleri'ni (A.B.D.'de 1-800-328-1671) veya yerel resmi 3M Gıda Güvenliği temsilcinizi arayın.

3M SINIRLI SORUMLULUĞU

3M DOĞRUDAN, DOLAYLI, ÖZEL, ARIZİ VEYA NETİCE KABİLİNDEN DOĞMUŞ, KAYBEDİLMİŞ KAZANÇLAR DAHİL ANCAK BUNUNLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE HERHANGİ BİR KAYIP VEYA ZARARDAN SORUMLU OLMAYACAKTIR. Hiçbir durumda 3M'in herhangi bir hukuk kuramı altındaki sorumluluğu, kusurlu olduğu iddia edilen ürünün satış fiyatını aşamaz.

KULLANICININ SORUMLULUĞU

Kullanıcılar ürün yönergeleri ve bilgileri hakkında bilgi edinmekle yükümlüdür. Daha fazla bilgi için www.3M.com/foodsafety adresini ziyaret ediniz ya da yerel 3M temsilcinizle veya dağıtıcınızla iletişim kurunuz.

Bir test yöntemi seçerken, numune alma yöntemleri, test protokolleri, numunenin hazırlanması, işlem yapılması ve laboratuvar tekniği gibi dış faktörlerin sonuçları etkileyebileceğinin bilinmesi gerekir.

Seçilen test yönteminin kullanıcının kriterlerini karşıladığı konusunda kullanıcıyı tatmin edecek uygun matrisler ve mikrobiyal zorluklarla yeterli sayıda numuneyi değerlendirmek üzere herhangi bir test yönteminin seçilmesi kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test metodlarının ve sonuçlarının müşterilerin ve tedarikçilerin gereksinimlerini karşılamasını sağlamak yine kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test yöntemlerinde olduğu gibi, herhangi bir 3M Gıda Güvenliği ürününün kullanılmasından elde edilen sonuçlar test edilen matrislerin veya süreçlerin kalitesi konusunda bir garanti oluşturmaz.

Çeşitli gıda matrislerine yönelik olarak yöntemin değerlendirilmesinde müşterilere yardımcı olmak için 3M, 3M™ Moleküler Tayin Matris Kontrolü kitini geliştirmiştir. Gerekliğinde, matrisin 3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2 sonuçlarını etkileyip etkilemediğini belirlemek üzere Matris Kontrolü (MC) kullanın. 3M yönteminin adapte edildiği ya da yeni veya bilinmeyen matrislerin ya da hammaddesi veya prosesi değişen matrislerin test edildiği herhangi bir validasyon döneminde, matrisi temsil eden birkaç numuneyi, yani farklı kaynaktan alınan numuneleri test edin.

Matris, bileşim ve proses gibi yapısal özellikleri olan bir ürün türü şeklinde tanımlanabilir. Matrisler arasındaki farklılıklar, proseslerdeki veya sunumlarındaki farklılıkların neden olduğu etkiler kadar basit olabilir, örn., pastörize ve ham, kuru ve taze vb.

SAKLAMA VE İMHA ETME

3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2'i 2-8°C'de saklayın. Dondurmayın. Saklama sırasında ışıktan uzak tutun. Kiti açtıktan sonra, folyo poşetin zarar görmemiş olduğunu kontrol edin. Poşet zarar görmüşse, kullanmayın. Açtıktan sonra, kullanılmayan reaktif tüplerinin, liyofilize reaktiflerin stabilitesini sürdürmek amacıyla, içinde nem çekici ile ağız tekrar kapatılabilir poşet içinde saklanması gerekir. Yeniden mühürlenmiş poşetleri 60 günden uzun olmamak kaydıyla 2-8°C sıcaklıkta saklayın.

3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2'i son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Son kullanma tarihi ve lot numarası kutunun dış yüzündeki etikette belirtilmiştir. Kullanıldıktan sonra, zenginleştirme besiyeri ve 3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2 tüpleri, potansiyel olarak patojenik materyaller içerebilir. Test tamamlandıktan sonra, kontamine atığın imha edilmesi için geçerli endüstri standartlarına uyun. Ek bilgiler ve ürünün imha edilmesi ile ilgili yerel düzenlemeler için Güvenlik Veri Formu'na bakın.

KULLANIM TALİMATLARI

Tüm talimatlara uymaya özen gösterin. Bu uyarının dikkate alınmaması yanlış sonuçlara neden olabilir.

Laboratuvar tezgahlarını ve ekipmanını (pipetler, kapak takma/kapak sökme araçları, vs.) %1-5'lik (suda h:h) bir çamaşır suyu çözeltisi veya DNA uzaklaştırma çözeltisi ile periyodik olarak dekontamine edin.

NUMUNE ZENGİNLEŞTİRME

Tablo 2, gıda ve çevre numunelerinin zenginleştirilmesi için rehber bilgiler sunar. Bu test yönteminin kullanıcı kriterlerini karşılamasını sağlamak üzere alternatif numune alma protokollerinin veya seyreltim oranlarının valide edilmesi kullanıcının sorumluluğundadır.

Gıdalar

1. Demi Fraser Broth zenginleştirme besiyerinin (demir amonyum sitrat içerir) laboratuvar ortam sıcaklığına gelmesini bekleyin.
2. Zenginleştirme besiyeri ve numuneyi aseptik olarak Tablo 2'ye göre birleştirin. Tüm et ve yüksek oranda partikül içeren numuneler için, filtre torbalarının kullanılması önerilir.
3. Blender ile, stomacher ile veya elle 2 ± 0,2 dakika boyunca karıştırarak tamamen homojenize edin. Tablo 2 uyarınca 37 ± 1°C sıcaklıkta inkübe edin.
4. Çiğ süt ürünleri için 0,1 ml birincil zenginleştirmeyi 10 ml Fraser Broth içine transfer edin. 20-24 saat boyunca 37 ± 1°C sıcaklıkta inkübe edin.



Çevre numuneleri

Numune toplama aletleri, sanitizasyon etkilerini inaktive etmek için bir nötralizasyon çözeltisi ile ıslatılmış bir spanç olabilir. 3M, biyosit içermeyen selüloz spanç kullanımını önermektedir. Nötrleştirici çözelti Dey-Engley (D/E) Nötrleştirici Broth veya Letheen Broth olabilir. Numune alındıktan sonra, alanın sanitize edilmesi önerilir.

UYARI: Spanç için hidrate edici çözelti olarak aril sülfonat içeren Nötralizasyon Tamponu (NB) kullanmayı seçtiyseniz, kontamine ürünün açığa çıkmasına yol açan yanlış negatif bir sonuçla ilişkili riskleri azaltmak amacıyla, test öncesi zenginleştirilmiş çevre numunesi için 1:2 oranında dilüsyon (1 birim steril zenginleştirme besiyeri içine 1 birim numune) gerçekleştirilmesi gereklidir.

Yüzey üzerinde patojen olduğunu veya olmadığını doğrulamak için önerilen numune alma alanı büyüklüğü en az 100 cm²'dir (10 cm x 10 cm veya 4"x4"). Bir spanç ile numune alırken, her iki yönde tüm alanı kapsayacak şekilde (soldan sağa, ardından yukarıdan aşağıya) ya da mevcut numune alma protokolünüze uyarak veya FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ ya da ISO 18593⁽⁶⁾ kılavuzlarına uygun olarak çevre numunelerini alın.

1. Demi Fraser Broth zenginleştirme besiyerinin (demir amonyum sitrat içerir) laboratuvar ortam sıcaklığına gelmesini bekleyin.
2. Zenginleştirme medyumunu ve numuneyi Tablo 2'ye göre aseptik olarak birleştirin.
3. Blender ile, stomacher ile veya elle 2 ± 0,2 dakika boyunca karıştırarak tamamen homojenize edin. 24-30 saat boyunca 37 ± 1°C sıcaklıkta inkübe edin.

Tablo 2: Demi Fraser Broth Zenginleştirme kullanan zenginleştirme protokolleri

Numune Matrisi	Numune Boyutu	Zenginleştirme Besiyeri Hacmi (ml)	Zenginleştirme Sıcaklığı (°C)	Zenginleştirme Süresi (saat)				
Isıl işlem görmüş, pişirilmiş, tütülenmiş et, kümes hayvanı eti, deniz mahsulleri ve balık	25 g	225	37	24-30				
Isıl işlem görmüş/ pastörize edilmiş süt ürünleri								
Meyve ve sebzeler								
Çok bileşenli gıdalar								
Çevre numuneleri	1 spanç	100 veya 225	37	24-30				
	1 swab	10	37	24-30				
Çiğ et, kümes hayvanı eti, deniz mahsulleri ve balık	25 g	475	37	28-32				
Numune Matrisi	Primer Zenginleştirme (Demi Fraser Broth)				Sekonder Zenginleştirme (Fraser Broth)			Numune Analiz Hacmi ^(a)
	Numune Boyutu	Zenginleştirme Besiyeri Hacmi (ml)	Zenginleştirme Sıcaklığı (°C)	Zenginleştirme Süresi (saat)	Numune Boyutu	Zenginleştirme Sıcaklığı (°C)	Zenginleştirme Süresi (saat)	
Çiğ süt ürünleri	25 g	225	37	20-24	0,1 ml'yi 10 ml Fraser Broth'a transfer edin	37	20-24	10 µL

(a) Lizis Solüsyonu tüplerine aktarılan numune hacmi. Lizis bölümünde 4.6 Adımına bakın.

3M™ MOLEKÜLER TAYİN HIZLI YÜKLEYİCİ TEPSİSİ'NİN HAZIRLANMASI

1. Bir bezi %1-5'lik (suda v:v) çamaşır suyu çözeltisi ile ıslatın ve 3M™ Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni silin.
2. 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni su ile durulayın.
3. 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni silmek için tek kullanımlık bir havlu kullanın.
4. Kullanmadan önce, 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'nin kuru olduğundan emin olun.

3M™ MOLEKÜLER TAYİN SOĞUTMA BLOĞU EK PARÇASI'NİN HAZIRLANMASI

3M™ Moleküler Tayin Soğutma Bloğunu doğrudan laboratuvar tezgahının üzerine yerleştirin; (3M™ Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Tepsisi kullanılmaz). Soğutma bloğunu laboratuvar ortam sıcaklığında kullanın (20-25°C).

3M™ MOLEKÜLER TAYİN ISITMA BLOĞU EK PARÇASI'NİN HAZIRLANMASI

3M™ Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nı kuru bloklu bir ısıtma ünitesine yerleştirin. Kuru blok ısıtıcı ünitesini çalıştırın ve 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 'lik bir sıcaklığa ulaşmasını ve bu sıcaklığı korumasını sağlamak için sıcaklığı ayarlayın.

NOT: Isıtma ünitesine bağlı olarak, 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın istenen sıcaklığa ulaşması için yaklaşık 30 dakika bekleyin. Belirlenen yere yerleştirilmiş uygun ve kalibre edilmiş bir termometre (örn., tamamen daldırma tipi değil, kısmi daldırma tipi termometre veya dijital ısı çift termometre) kullanarak 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de olduğunu doğrulayın.

3M™ MOLEKÜLER TAYİN CİHAZI'NİN HAZIRLANMASI

1. 3M™ Moleküler Tayin Yazılımı'nı başlatın ve giriş yapın.
2. 3M Moleküler Tayin Cihazı'nı çalıştırın.
3. Her bir numune için verilerin olduğu bir test oluşturun veya düzenleyin. Ayrıntılar için bkz. 3M Moleküler Tayin Sistemi Kullanım Kılavuzu.

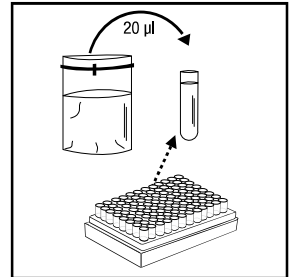
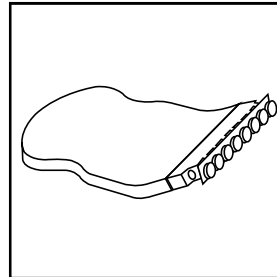
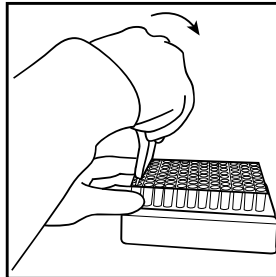
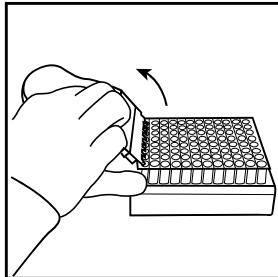
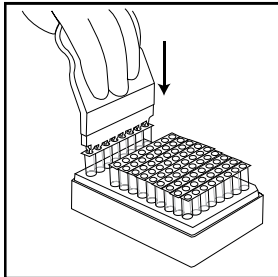
NOT: Reaksiyon tüpleri ile birlikte 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni yerleştirmeden önce, 3M Moleküler Tayin Cihazı 60°C sıcaklığa ulaşmalı ve bu sıcaklığı korumalıdır. Bu ısınma aşaması yaklaşık 20 dakika sürer ve cihazın durum çubuğunda TURUNCU bir ışık ile gösterilir. Cihaz bir testi başlatmaya hazır olduğunda, durum çubuğu YEŞİL renge döner.

LİZİS

1. Rafı, bir gece boyunca (16-18 saat) ortam sıcaklığına ($20-25^\circ\text{C}$) ayarlayarak lizis solüsyonu (LS) tüplerinin ısınmasını sağlayın. LS tüplerini ortam sıcaklığına getirmek için alternatifler, LS tüplerini en az 2 saat laboratuvar tezgahına koymak, LS tüplerini 1 saatliğine $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de inkübe etmek veya kuru çift bloklu bir ısıtıcıya 100°C 'de 30 saniyelikliğine yerleştirmektir.
2. Kapalı tüpleri karıştırmak için, kullanım süresinden 4 saat önceye kadar tersyüz edin.
3. Zenginleştirme broth'unu inkübatörden çıkarın.
4. Her numune ve Negatif Kontrol (NC) (steril zenginleştirme besiyeri) numunesi için bir LS tüpü gereklidir.
 - 4.1 LS tüpü stripleri, istenen LS tüpü sayısı kadar kesilebilir. İhtiyaç duyulan sayıda bağımsız LS tüpü veya 8 tüplük strip seçin. LS tüplerini boş bir rafa yerleştirin.
 - 4.2 Çapraz kontaminasyonu önlemek için, LS tüplerinin kapaklarını teker teker kapatın ve her bir aktarım aşaması için yeni bir pipet ucu kullanın.
 - 4.3 Aşağıda tanımlandığı gibi, zenginleştirilmiş numuneyi LS tüplerine aktarın:

Öncelikle, her bir zenginleştirilmiş numuneyi bağımsız bir LS tüpüne aktarın. **Son olarak** NC'yi aktarın.

- 4.4 Bir LS tüpü stripinin kapağını sökmek için, 3M™ Moleküler Tayin Kapak Takma/Kapak Sökme Aracı - Lizis'i kullanın - her seferde tek strip için kullanın.
- 4.5 LS tüp kapağını atın; Lizat tekrar test edilmek üzere tutulacaksa, lizisten sonra tekrar uygulama için kapakları temiz bir kaba koyun. Elde bulunan lizatin işlenmesi için, Ek A'ya bakın.
- 4.6 Protokol tablosunda aksi belirtilmediği sürece, 20 µL numuneyi LS tüpünün içerisine transfer edin.
5. Ayrı numune striplerinin her biri ilgili LS tüpüne eklenene kadar 4.2 adımı tekrarlayın.



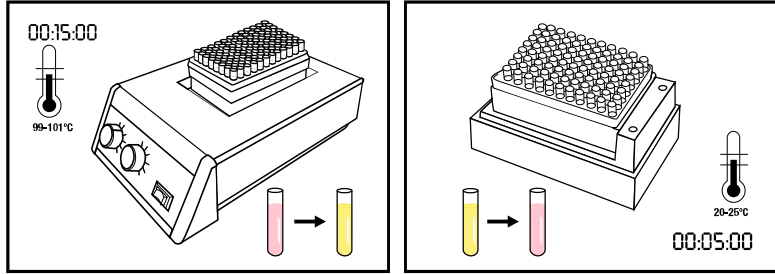
6. Test edilecek numune sayısı için 4.1 ila 4.6 adımlarını gerektiği şekilde tekrar edin.
7. Numuneler transfer edildiğinde, 20 µL Negatif Kontrolü (steril zenginleştirme besiyeri, örn., Demi Fraser Broth) LS tüpü içine transfer edin. Negatif Kontrol olarak su kullanmayın.
8. 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası sıcaklığının $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de olduğunu doğrulayın.

9. Açık LS tüpü rafını 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'na yerleştirin ve 15 ± 1 dakika süreyle ısıtın. Isıtma boyunca, LS solüsyonunun rengi pembeden (soğuk) sarıya (sıcak) dönecektir.

Test lizis aşaması sırasında doğru şekilde ısıtma işlemi tabi tutulmayan numuneler, olası bir biyolojik tehlike olarak düşünülebilir ve 3M Moleküler Tayin Cihazı'na KONULMAMALIDIR.

10. LS tüplerinin açık rafını ısıtma bloğundan çıkarın ve 3M Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'nda en az 5, en fazla 10 dakika soğumasını bekleyin. Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Tepsisi olmadan ortam sıcaklığında kullanılan 3M Moleküler Soğutma Bloğu Ek Parçası doğrudan laboratuvar tezgahının üzerinde olmalıdır. Soğuduğunda, lizis solüsyonunun rengi tekrar pembeye dönecektir.

11. LS tüpü rafını 3M Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'ndan çıkarın.

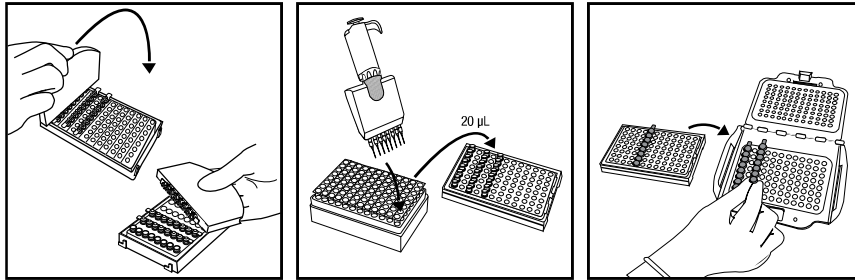


AMPLİFİKASYON

- Her numune ve NC için bir Reaktif tüpü gereklidir.
 - Reaktif tüp stripleri, istenen tüp sayısı kadar kesilebilir. Gereken ayrı Reaktif tüpü veya 8 tüplü strip sayısını seçin.
 - Reaktif tüplerini boş bir rafa yerleştirin.
 - Tüplerin dip tarafındaki reaktif peletlerini karıştırmaktan kaçının.
- Reaktif Kontrolü (RC) 1 tüpünü seçin ve rafa yerleştirin.
- Çapraz bulaşmayı önlemek için bir seferde yalnızca bir Reaktif tüpü strip kapağını açın ve her aktarım aşaması için yeni bir pipet ucu kullanın.
- Lizatı, aşağıda açıklandığı gibi Reaktif tüplerine ve RC tüpüne transfer edin:

NC'yi takiben, her bir lizat numunesini **ilk olarak** ayrı Reaktif tüplerine aktarın. RC tüpünü **en son** ısıtın.

- Reaktif tüplerinin kapağını sökmek için 3M™ Moleküler Tayin Kapak Takma/Kapak Sökme Aracı-Reaktif'i kullanın (bir defada bir Reaktif tüpü stripi). Kapağı atın.
 - LS tüpündeki lizat numunesinin 20 µL'sini karşılık gelen Reaktif tüpüne transfer edin. Peletlerin karışmasını önlemek için açılı olarak dökün. Yukarı aşağı 5 kez pipetleyerek hafifçe karıştırın.
 - Ayrı ayrı her Numune lizatı strip içindeki karşılık gelen Reaktif tüpüne eklenene kadar 5.1 adımını tekrar edin.
 - Reaktif tüplerini, tedarik edilen ilave kapak ile kapatın ve kapağın sıkı bir şekilde kapatıldığından emin olmak amacıyla, aşağı yukarı hareketle basınç uygulamak üzere 3M Moleküler Tayin Kapak Takma/Kapak Sökme Aracı-Reaktif'in yuvarlak tarafını kullanın.
 - Test edilecek numune sayısı için 5.1 adımını gerektiği şekilde tekrarlayın.
 - Tüm numune lizatları aktarıldığında, bir Reaktif tüpüne 20 µL Negatif Kontrol lizatı aktarmak için 4.1 adımını tekrar edin.
 - Bir RC tüpü içine 20 µL NC lizatı** aktarın. Peletlerin karışmasını önlemek için açılı olarak dökün. Yukarı aşağı 5 kez pipetleyerek hafifçe karıştırın.
- Kapağı takılmış olan tüpleri temiz ve dekontamine bir 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ne yükleyin. 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi kapağını kapatın ve sürgüsünü kilitleyin.



- 3M Moleküler Tayin Yazılımı'ndaki yapılandırılmış testi gözden geçirin ve onaylayın.
- Yazılımdaki Start (Başlat) düğmesine tıklayın ve kullanmak üzere cihazı seçin. Seçilen cihazın kapağı otomatik olarak açılır.
- 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni 3M Moleküler Tayin Cihazı'na yerleştirin ve testi başlatmak üzere kapağı kapatın. Pozitif sonuçlar daha önce tayin edilebilmekle beraber, sonuçlar 75 dakika içinde elde edilir.
- Test tamamlandıktan sonra, 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni 3M Moleküler Tayin Cihazı'ndan çıkarın ve tüpleri 1 saat süresince %1-5'lik (suda v:v) çamaşır suyu çözeltisine daldırarak ve test hazırlık alanından uzağa atın.

NOT: Çapraz kontaminasyondan kaynaklanan yanlış pozitif sonuçların elde edilmesi riskini en aza indirmek için, amplifiye edilmiş DNA içeren reaktif tüplerini hiçbir zaman açmayın. Bunlara Reaktif Kontrolü, Reaktif ve Matris Kontrolü tüpleri de dahildir. Ağzı sıkıca kapatılmış reaktif tüplerini daima, 1 saat süresince %1-5'lik (suda v:v) çamaşır suyu çözeltisine daldırarak ve test hazırlık alanından uzağa atın.

SONUÇLAR VE YORUMLAMA

Bir algoritma, nükleik asit amplifikasyonu tayininden kaynaklanan ışık çıkışı eğrisini yorumlar. Sonuçlar yazılım tarafından otomatik olarak analiz edilir ve sonuca göre renk kodlaması yapılır. Bazı benzersiz eğri parametrelerinin analiz edilmesi ile Pozitif veya Negatif sonuç belirlenir. Negatif ve Kontrol sonuçları test tamamlandıktan sonra gösterilirken, olası pozitif sonuçlar gerçek zamanlı olarak bildirilir.

Uygun biyokimyasal ve serolojik yöntemler kullanılarak izolatların kaplanması ve doğrulanmasının takip ettiği primer zenginleştirme besiyerlerinden sekonder zenginleştirme besiyerlerine (varsa) aktarımdan başlayarak, olası pozitif numuneler laboratuvar standart çalışma prosedürlerine göre veya uygun referans yöntemi doğrulamasına^(1,2,3) uyularak onaylanmalıdır.

NOT: Sistem ve 3M Moleküler Tayin Testi *Listeria monocytogenes*-2 amplifikasyon reaktifleri "arka plan" bağıl ışık birimine (RLU) sahip olduğundan negatif bir numune bile sıfır okuma sağlamayacaktır.

Nadir olarak olağandışı ışık çıkışı durumunda, algoritma bu durumu "Kontrol" olarak etiketler. 3M, tüm Kontrol numuneleri için kullanıcının testi tekrarlamasını önerir. Kontrol sonucu almaya devam ederseniz, tercih ettiğiniz yöntemi kullanarak veya yerel düzenlemeler ile belirlendiği şekilde, doğrulama testine geçin.

Belirli uygulamalar veya prosedürler hakkında sorularınız varsa, lütfen www.3M.com/foodsafety adresindeki internet sitemizi ziyaret edin veya yerel 3M temsilcisi ya da distribütörü ile irtibat kurun.

REFERANSLAR:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Mikrobiyoloji Laboratuvar Kılavuzu 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs — Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

Ek A. Protokol Kesintisi: Isıl işlem görmüş lizatların saklanması ve yeniden test edilmesi

1. Isıl işlem görmüş lizatı saklamak için, lizis tüpünü temiz bir kapak ile yeniden kapatın (bkz "Lizis", 4.5).
2. 72 saate kadar 4 - 8°C sıcaklıkta saklayın.
3. Saklanan numuneyi, karıştırmak üzere 2-3 kez tersyüz ederek amplifikasyon için hazırlayın.
4. Tüplerin kapaklarını çıkarın.
5. Karıştırılan lizat tüplerini 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası üzerine yerleştirin ve 5 ± 1 dakika $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de ısıtın.
6. Isı tüplerinin açık rafını ısıtma bloğundan çıkarın ve 3M Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'nda en az 5, en fazla 10 dakika soğumasını bekleyin.
7. Protokole, yukarıda detayları verilen 'Amplifikasyon' bölümünden devam edin.

ÜRÜN ETİKETİ NUMUNELERİNİN AÇIKLAMASI



Dikkat veya Uyarı, bkz. ürün talimatları.



Ürün talimatlarına bakın.



Kutu içindeki lot işareti, lot numarasını temsil eder.



Kum saati takip eden ay ve yıl son kullanma tarihini gösterir.



Saklama sıcaklığı sınırları.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

製品情報

分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネス MDA2LM096

製品の概要および用途

3M™ 分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスは、3M™ 分子検出システムを用いて環境検査におけるリステリア属菌を迅速かつ特異的に検出するときに使用します。

3M 分子検出アッセイは、増幅した菌を検出するために、高い特異性と感度を持つ核酸配列を迅速に増幅するLAMP法を、生物発光性と組み合わせて利用します。推定陽性結果はリアルタイムに表示され、陰性結果はアッセイが完了してから表示されます。結果が陽性と推定される場合は、任意の別の方法または行政の規制によって指定されたとおりに確認する必要があります^(1,2,3)。

3M 分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスは、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。3M社は、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。例えば、3M社は、本製品を水や医薬品、化粧品、臨床または獣医学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。3M 分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスは、すべての検査プロトコル、すべての菌株に対する評価は実施しておりません。

すべての検査法と同様に、増菌培地が結果に影響する場合があります。3M 分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスとデミ フレーザー基礎培地（クエン酸鉄アンモニウム含有）との併用に対する評価は実施されています。デミ フレーザー基礎培地の一般的な組成は以下のとおりです。

デミ フレーザー基礎培地の一般的な組成 (g/L)

塩化ナトリウム	20 g
リン酸二ナトリウム（無水）*	9.6 g
牛肉エキス	5.0 g
カゼインのパンクレアチン消化物	5.0 g
動物組織のペプシン消化物	5.0 g
酵母エキス	5.0 g
塩化リチウム	3.0 g
リン酸二水素カリウム	1.35 g
エスクリン	1.0 g
アクリフラビン塩酸塩	0.0125 g
ナリジクス酸	0.01 g
* 代用：リン酸二ナトリウム（2水和物）	12.0 g

フレーザー基礎培地サプリメント

（10 mLバイアル1本当たりの成分。バイアル1本分を基礎培地1 Lに添加）

クエン酸鉄アンモニウム	0.5 g/10 mL
-------------	-------------

pH7.2±0.2、25°Cに最終調整します。

3M™ 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、検体中に存在する有機物を分解するように設計されています。アッセイのライシスステップ中に適切な熱処理を行っていない検体は、潜在的バイオハザードと考えられる可能性がありますので、3M 分子検出装置内には入れないでください。

3M食品衛生管理製品は、設計と製造にISO（国際標準化機構）9001の認証を取得しています。

3M 分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネス検査キットは、表1に記載のとおり96検体用となっています。

表1. キットの内容

品目	特徴	数量	内容量	特記事項
ライシス（LS用）チューブ	クリアチューブに入ったピンク色の液体	96テスト分（8連チューブ12セット）	チューブ1本につきLS 580 µL	ラック入り、調整済み
リステリア・モノサイトゲネス試薬チューブ	黄色チューブ	96テスト分（8連チューブ12セット）	凍結乾燥済み混合特異増幅および検出	調整済み
予備キャップ	黄色キャップ	96テスト分（8連キャップ12セット）		調整済み
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（チューブ8本入り2パウチ）	凍結乾燥済みコントロールDNA、増幅試薬および検出試薬	調整済み
クイックスタートガイド		1		

陰性コントロール（キットには付属しません）は、デミ フレーザー基礎培地などの滅菌増菌培地です。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

3M分子検出システムおよび3M分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネス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、これらの情報は大切に保管してください。

△ **警告：** 回避できない場合、死亡または重篤な傷害や、物的損害が発生する可能性のある危険な状況を示します。

△ **注意：** 回避できない場合、軽微または中等度の傷害や、物的損害が発生する可能性のあ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

3M分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスは、ヒトまたは動物の病態診断に使用しないでください。

3M分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネス検査法によって、暴露されると、妊娠中の女性の場合は死産、免疫不全患者の場合は死亡の原因となる場合もある量の *Listeria monocytogenes* (リステリア・モノサイトゲネス) が発生する可能性があります。

検査実施担当者に現行の適切な検査技術を身につけるように指導してください (例：GLP、ISO 17025⁽⁴⁾、ISO 7218⁽⁵⁾)。

汚染された製品の流出の原因となる偽陰性の結果に伴う危険を回避するために：

- プロトコルに従い、製品情報に記載のとおり検査を行ってください。
- 3M分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスは、外装表示および製品情報に記載のとおり保管してください。
- 3M分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスは使用期限までに必ず使用してください。
- 3M分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスは、社内または第三者による検証を行った食品検体および環境検体に使用してください。
- 3M分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスは、社内または第三者による検証を行った表面、殺菌剤、検査プロトコル、対象菌株に対して使用してください。
- 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、検査前に1:2の希釈を行ってください (検体1に対して滅菌増菌培地1)。3MTM 検体処理製品のうち、中和緩衝液を含む製品は、BPPFV10NB、RS96010NB、RS9604NB、SSL10NB、XSL SSL10NB、HS10NB、HS119510NBです。

化学物質およびバイオハザードへの暴露に伴う危険を回避するために：

- 検査室の女性職員には、*Listeria monocytogenes* (リステリア・モノサイトゲネス) への暴露による母体感染から発達中の胎児に対する危険が発生することを説明するよう、強く推奨します。
- 訓練を受けた検査実施担当者の管理下で、適切な設備のある検査室にて食中毒菌検査を行ってください。
- 試薬および汚染された検体を取り扱う際は、適切な保護衣、保護メガネの装着など、標準的な検査室の安全手順に常に従ってください。
- 増菌培地の内容物や、増幅後の試薬チューブとの接触は避けてください。
- 現行の産業基準に従って増菌された検体を廃棄してください。

アッセイ準備中の交差汚染に関連する危険を回避するために：

- 手袋を必ず着用してください (ユーザー保護とヌクレアーゼの混入を避けるため)。

環境汚染に関連する危険を回避するために：

- 汚染廃棄物の廃棄に関しては、現行の廃棄基準に従ってください。

△ 注意

- 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、3MTM 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3M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関連する危険を回避するために：

- 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。
- GLPIに従って検体を増菌培地からライシスチューブに移注してください。ピペットの汚染を回避するため、中間的な移注ステップを追加することもできます。例えば、増菌された各検体を滅菌チューブに移注することができます。
- 利用可能な場合は、殺菌灯が装備された病原菌取扱エリアを使用してください。

偽陽性の結果に伴う危険を回避するために：

- 増幅後のチューブは絶対に開けないでください。
- 汚染されたチューブは、常に、1~5% (v/v in water) 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。

廃棄に関する詳細および行政の規制については、製品安全データシートを参照してください。

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.3M.com/foodsafety) をご覧いただくか、3M販売担当者またはお近くの販売店までお問い合わせください。



保証の限定／限定救済策

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、3M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、あらゆる種類の保証も負いかねます。3M食品衛生部門の製品に欠陥があった場合、3Mまたは取扱販売店で交換あるいは返品処理をいたします。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日以内にすみやかに3Mに通知し、製品を3Mに返送する必要があります。返品可否についてはカスタマーサービスにお電話にてご連絡いただくか、お近くの3M食品衛生部門までお問い合わせください。

3Mの保証責任範囲

3Mは、直接的・間接的、特殊、偶発的または必然的を問わず、利益損失を含むがこれに限定されないあらゆる損失に対しての責任を放棄します。いかなる場合においても、あらゆる法的理論に対しても、3Mの保証責任範囲は、欠陥と認められた製品の購入金額を超えることはありません。

お客様の使用責任

お客様には、使用前に添付文書および製品情報を熟読し、情報に精通する責任があります。詳細につきましては、当社ウェブサイトwww.3M.com/foodsafetyをご覧ください。お近くの3M販売担当者または販売店にお問い合わせください。

検査方法を選択する際には、サンプリング方法、検査プロトコル、サンプルの準備、取り扱い、および検査手技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。

お客様の基準を満たすように、適切な食材および菌株を用いた十分な数のサンプルを評価するための検査方法または製品を選択することは、お客様の責任となります。

また、その検査方法および結果が顧客あるいは供給業者の要求を満たしているかについても、お客様の判断となります。どの検査方法を使用した場合でも、3M食品衛生管理製品を使用して得られた結果により、検査で使用了食材または工程中の品質を保証するものではありません。

各種食品マトリックス（食材）の検査方法の評価にご利用いただくため、3Mでは3M™ 分子検出マトリックスコントロールキットをご用意しました。必要に応じて、マトリックスコントロール（MC）を使用し、対象マトリックスが3M 分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスの検査結果に影響を及ぼすかどうかを判定してください。3Mの検査法を採用する場合、または新規や由来の不明なマトリックス、あるいは原材料を加工したマトリックスや加工工程に変化の生じたマトリックスを検査する場合は、検証期間中に、マトリックスの標準となる複数の検体（由来の異なる検体）を検査してください。

マトリックスは、成分や加工状態など固有の特性を備える製品の種類として定義されます。マトリックスは、加工や外観など（例：未加工／滅菌済み、生食用／乾物など）の違いと同じように単純に区別できます。

保管と廃棄

3M 分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスは2～8℃で保管してください。冷凍しないでください。暗所で保管してください。キット開封後は、ホイルパウチが破損していないことを確認してください。パウチが破損している場合は、使用しないでください。開封後、使用しない試薬チューブは、凍結乾燥試薬の安定性を保つため、乾燥剤と共に再密閉可能なパウチ内に必ず保管してください。再密閉したパウチは2～8℃で、60日間保存することができます。

3M 分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスは使用期限までに必ず使用してください。使用期限およびロット番号は外箱ラベルに記載されています。使用後、増菌培地および3M 分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネスには病原性の物質が含まれる可能性があります。検査終了後は、汚染廃棄物の廃棄に関する現行の産業基準に従ってください。廃棄に関する詳細および行政の規制については、製品安全データシートを参照してください。

使用方法

すべての指示に、注意深く従ってください。従わない場合、正確な結果が得られないことがあります。

検査室の作業台および備品（ピペット、キャップ／デキャップツール等）は、1～5%（v/v in water）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。

検体の増菌

表2には、食品検体と環境検体を増菌する場合のガイドラインを示しています。この検査法がお客様の基準に合致するかを確かめるために他の検体採取プロトコルあるいは希釈率で確認することは、お客様の責任となります。

食品

1. 増菌培地用のデミ フレーザー基礎培地（クエン酸鉄アンモニウム含有）が検査室の室温と等しくなるまで待ちます。
2. 表2に従って、増菌培地と検体を無菌的に混合します。すべての肉類、超微粒子検体に関しては、フィルターバッグの使用を推奨します。
3. 均一になるように、ブレンダー、ストマッキング、手作業など、各種方法のいずれかで2±0.2分間よく攪拌（ホモジナイズ）します。表2に従って、37±1℃で培養します。
4. 原料乳に関しては、前培養培地0.1 mLをフレーザー基礎培地10 mLに滴下します。37±1℃で、20～24時間培養します。

環境検体

検体採取には、殺菌剤の効果を不活性化する中和溶液を浸み込ませたスポンジを利用できます。3M社では、殺生物剤フリーのセルローススポンジの使用を推奨しています。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。検体採取後に、採取領域を消毒することを推奨します。

警告： スポンジに浸み込ませる溶液としてアリルスルホン酸塩を含有する中和緩衝液（NB）の使用を選択した場合、汚染された製品の流出の原因となる偽陰性の結果に伴う危険を低減するため、検査前に、増菌した環境検体の1:2希釈（検体1に対して滅菌増菌培地1）を必ず行ってください。

表面の病原菌の有無を検証するための推奨採取範囲は、最小100 cm²（10 cm x 10 cmまたは4" x 4"）です。スポンジで検体採取を行う際は、2方向（左と右、その後上と下方向）に向かってエリア全体を覆うか、現行の検体採取プロトコルあるいはFDA BAM⁽¹⁾、USDA FSIS MLG⁽²⁾、ISO 18593⁽⁶⁾ ガイドラインに従って環境検体を採取してください。

1. 増菌培地用のデミ フレーザー基礎培地（クエン酸鉄アンモニウム含有）が検査室の室温と等しくなるまで待ちます。
2. 表2に従って、増菌培地と検体を無菌的に混合します。
3. 均一になるように、ブレンダー、ストマッキング、手作業など、各種方法のいずれかで2±0.2分間よく攪拌（ホモジナイズ）します。37±1°Cで、24～30時間培養します。

表2：増菌培地としてデミ フレーザー基礎培地を用いた増菌プロトコル

検体 マトリックス	検体量	増菌培地 の量（mL）	増菌温度 （℃）	増菌時間 （時間）				
加熱処理済み、 調理済み、保存 加工済みの肉、 家禽肉、魚介類 加熱処理済み／ 低温殺菌済み乳 製品 農産物および 野菜 多成分食品	25 g	225	37	24～30				
環境検体	スポンジ 1個	100または 225	37	24～30				
	スワブ1本	10	37	24～30				
生肉、家禽肉、 魚介類	25 g	475	37	28～32				
検体 マトリックス	前培養（デミ フレーザー基礎培地）				選択増菌（フレーザー基礎培地）			検体の分 析量 ^(a)
	検体量	増菌培地 の量（mL）	増菌温度 （℃）	増菌時間 （時間）	検体量	増菌温度 （℃）	増菌時間 （時間）	
原料乳	25 g	225	37	20～24	0.1 mLをフ レーザー基 礎培地10 mL に滴下	37	20～24	10 μL

(a) LS用チューブに移注する検体の量です。「ライシス」セクションのステップ4.6を参照してください。



3M™ 分子検出スピードローダートレイの準備

1. 1～5% (v/v in water) の家庭用漂白液で湿らせた布で、3M™ 分子検出スピードローダートレイを拭きます。
2. 水で3M 分子検出スピードローダートレイを濯ぎます。
3. 使い捨てタオルで、3M 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、3M 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。

3M™ 分子検出チルブロックインサートの準備

3M™ 分子検出チルブロックを作業台の上に直に置きます (3M™ 分子検出チルブロックトレイは使用しません)。チルブロックは検査室の室温で (20～25℃) 使用します。

3M™ 分子検出ヒートブロックインサートの準備

3M™ 分子検出ヒートブロックインサートをドライブロックヒーターユニットに入れます。ドライブロックヒーターユニットをオンにして、温度を100±1℃に設定します。3M 分子検出ヒ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。

注記： 使用するヒーターユニットにより、3M 分子検出ヒートブロックインサートが設定温度に達するまでに約30分かかります。適切な校正済みの温度計 (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、3M 分子検出ヒートブロックインサートが100±1℃であることを確認します。

3M™分子検出装置の準備

1. 3M™ 分子検出ソフトウェアを起動して、ログインします。
2. 3M 分子検出装置をオンにします。
3. 各検体のデータを含む検出結果を作成、編集します。詳細については、3M 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。

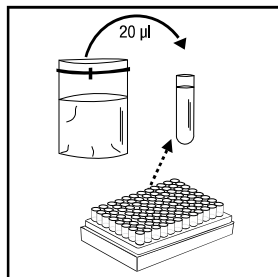
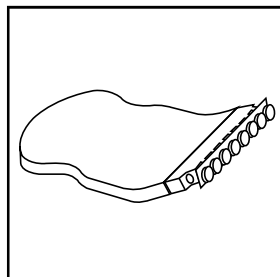
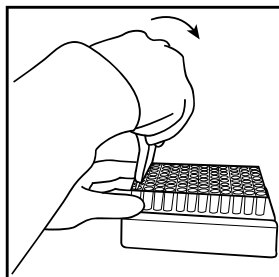
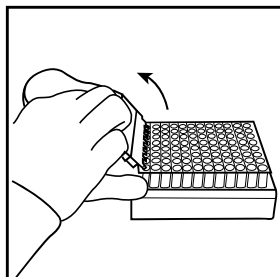
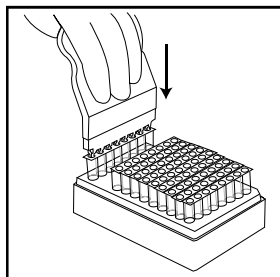
注記： 3M 分子検出装置は、反応チューブと共に3M 分子検出スピードローダートレイを入れる前に60℃まで加熱され、保温されている必要があります。この加熱ステップには約20分かかり、装置のステータスバーがオレンジ色に点灯します。装置の準備ができると、ステータスバーは緑色に変わります。

ライシス

1. ライシス (LS用) チューブは、ラックに一晚 (16～18時間) 静置して、室温 (20-25℃) に戻します。LS用チューブを室温に戻す別の方法としては、LS用チューブを作業台の上に2時間以上静置するか、LS用チューブを37±1℃のインキュベータ内で1時間保温するか、LS用チューブをドライダブルブロックヒーターに入れて100℃で30秒間加熱します。
2. 使用する4時間前までに、キャップをしたチューブを反転させて混合します。
3. インキュベータから増菌培地を取り出します。
4. 各検体および陰性コントロール (NC) (滅菌増菌培地) 検体につきLS用チューブ1本が必要です。
 - 4.1 LS用チューブのストリップは、必要なLS用チューブ数に合わせて分割できます。各LS用チューブまたは8連チューブのストリップの数を選択してください。LS用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、LS用チューブのキャップは一度に1ストリップずつ外し、移注ステップごとに新しいピペットチップを使用してください。
 - 4.3 以下に記載のとおり、増菌した検体をLS用チューブに移注します。

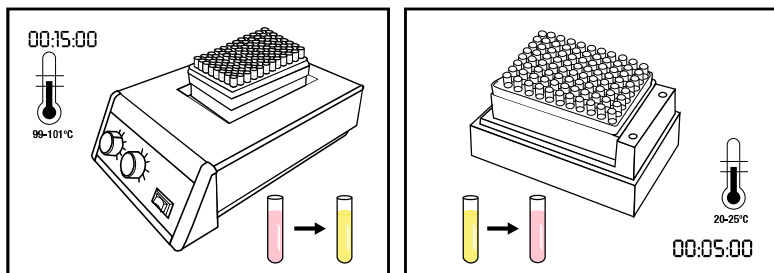
最初に、増菌した各検体を各LS用チューブに移注します。最後にNCに移注します。

- 4.4 3M™ 分子検出キャップ/デキャップツール - 溶解を使用して、LS用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 LS用チューブのキャップを廃棄します。溶解物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。保存した溶解物の処理については、付録Aを参照してください。
- 4.6 プロトコルの表に別の指示がある場合を除き、検体20 µLをLS用チューブに移注します。
5. 各検体が、ストリップの対応するLS用チューブに添加されるまでステップ4.2を繰り返します。



6. 検査する検体数に応じて、ステップ4.1～4.6を繰り返します。
7. すべての検体を移注したら、NC 20 µL (滅菌増菌培地。例：デミ フレーザー基礎培地) をLS用チューブに移注します。水はNCとして使用しないでください。

8. 3M 分子検出ヒートブロックインサートの温度が $100 \pm 1^\circ\text{C}$ であることを確認してください。
9. 3M 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LS用チューブラックを入れて、 15 ± 1 分間加熱します。加熱中、LS溶液はピンク色（低温）から黄色（高温）に変色します。
アッセイのライシスステップ中に適切な熱処理を行っていない検体は、潜在的バイオハザードと考えられる可能性がありますので、3M 分子検出装置内には入れないでください。
10. ヒートブロックからカバーを外したLS用チューブラックを取り出し、3M 分子検出チルブロックインサート内で5分以上（最大10分間）冷却します。分子検出チルブロックトレイを外して室温に戻された3M 分子検出チルブロックインサートは、作業台の上に直に置いてください。冷却されると、LS溶液はピンク色に戻ります。
11. 3M 分子検出チルブロックインサートからLS用チューブラックを取り出します。

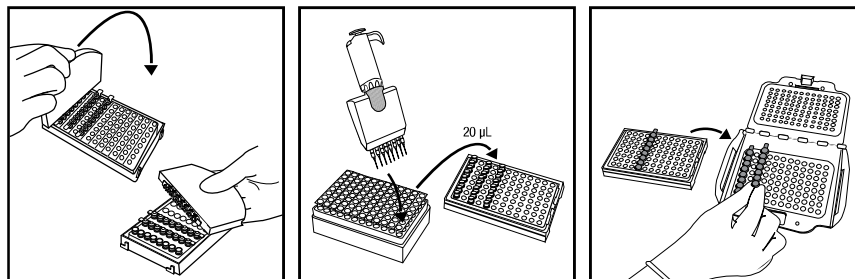


増幅

1. 各検体およびNCにつき試薬チューブ1本が必要です。
 - 1.1 試薬チューブのストリップは、必要なチューブ数に合わせて分割できます。各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 試薬チューブを空のラックに置きます。
 - 1.3 チューブの底の試薬ペレットを攪拌しないでください。
2. 試薬コントロール（RC）チューブを1本選択して、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、移注ステップごとに新しいピペットチップを使用してください。
4. 以下に記載のとおり、溶解物を試薬チューブに移注します。

最初に各試薬チューブに各検体溶解物を移注し、次にNCを移注します。最後にRCチューブを水和します。

5. 3M™ 分子検出キャップ/デキャップツール - 試薬を使用して、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 LS用チューブの検体溶解物20 μL を対応する試薬チューブに移注します。ペレットが攪拌されないよう、一定の角度で分注します。ピペッティングを上下5回行ってやさしく混合します。
 - 5.2 各検体溶解物が、ストリップの対応する試薬チューブに添加されるまでステップ5.1を繰り返します。
 - 5.3 付属の予備キャップを使用して試薬チューブをカバーし、3M 分子検出キャップ/デキャップツール - 試薬の丸い方を使って、キャップがしっかりと嵌るよう前後に動かして圧力をかけます。
 - 5.4 検査する検体数に応じて、ステップ5.1を繰り返します。
 - 5.5 すべての検体溶解物を移注したら、ステップ4.1を繰り返してNC溶解物20 μL を試薬チューブに移注します。
 - 5.6 RCチューブにNC溶解物20 μL を移注します。ペレットが攪拌されないよう、一定の角度で分注します。ピペッティングを上下5回行ってやさしく混合します。
6. 清潔な、殺菌済み3M 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。3M 分子検出スピードローダートレイを閉め、ラッチをかけます。



7. 3M 分子検出ソフトウェアで設定した検査内容を確認します。
8. ソフトウェアのスタートボタンをクリックして、使用する装置を選択します。選択された装置の蓋が自動的に開きます。
9. 3M 分子検出装置内に3M 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75分ほどで判定されますが、陽性の場合はもっと早く検出されます。



10. アッセイ終了後、3M 分子検出スピードローダートレイを3M 分子検出装置から取り出し、チューブは1~5% (v/v in water) 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。

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。試薬チューブには試薬コントロール、試薬、基質コントロールチューブが入っています。密閉された試薬チューブは必ず、1~5% (v/v in water) の家庭用漂白液に1時間浸漬した後、アッセイの準備作業領域から隔離して、廃棄してください。

結果と解釈

アルゴリズムが核酸増幅の結果より得られた光出力曲線を解釈します。結果はソフトウェアが自動的に解析し、結果に応じて色分けされます。陽性または陰性の結果は、多くの独自曲線パラメータの解析により決定されます。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、そのアッセイ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、デミフレーター基礎培地の前培養培地を選択増菌培地（該当する場合）に滴下し、次にプレート接種と適切な生化学的・血清学的手法を使用した釣菌を行って確認してください。

注記： 陰性検体がシステムとして0を返さない場合でも、3M 分子検出アッセイ2 リステリア・モノサイトゲネス増幅試薬は「バックグラウンド」相対発光量 (RLU) を持っています。

異常な光出力がみられるなどの稀なケースについては、アルゴリズムがこれを「Inspect」と標識します。3M社はお客様に、Inspect検体に対してアッセイを再度行うことを推奨します。その結果が続けてInspect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。

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.3M.com/foodsafety) をご覧いただくか、3M 販売担当者またはお近くの販売店までお問い合わせください。

参考文献：

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs - Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

付録A. プロトコルの中断：加熱処理済み溶解物の保管と再検査

1. 加熱処理済み溶解物を保管するには、LS用チューブに清潔なキャップを嵌めます（「ライシス」、4.5を参照）。
2. 4~8°Cで最大72時間保管します。
3. 保管された検体を2~3回反転させて混合し、増幅用に準備します。
4. チューブのキャップを外します。
5. 混合した溶解物チューブを3M 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カバーを外したLS用チューブラックを取り出し、3M 分子検出チルブロックインサート内で5分以上（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。

製品ラベル記号の説明



注意または警告、製品情報をご覧ください。



製品情報をお読みください。



枠囲みのLOTはロット番号を示します。



砂時計の後に月と年が表示され、使用期限を表します。



保管温度を表します。

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

产品信息

MDA2LM096

单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌

产品说明及预期用途

3M™ 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌与 3M™ 分子检测系统一起使用，用于快速、专门检测增菌后的食品和环境样品中的李斯特菌。

3M 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。实时报告假定阳性结果，阴性结果将在分析完成之后显示。应该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)。

3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特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，3M 尚未有资料可证。例如，对于此产品用于检测水样、制药、化妆品、临床或家畜样品，3M 尚未有资料可证。尚未针对所有可能的检测方案或针对所有可能的细菌类型评估 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌。

对于所有检测方法，培养基源都可能会影响结果。3M 已采用包含柠檬酸铁铵的半 Fraser 肉汤对 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌进行评估。该培养基的典型配方请见下文。

半 Fraser 肉汤基础典型配方 (g/L)

氯化钠	20 g
磷酸二氢钠（无水）*	9.6 g
浓缩牛肉汁	5.0 g
酪蛋白胰酶消化物	5.0 g
动物组织胃蛋白酶消化物	5.0 g
酵母抽提物	5.0 g
氯化锂	3.0 g
磷酸二氢钾	1.35 g
马栗树皮苷	1.0 g
盐酸吡啶黄	0.0125 g
萘啶酮酸	0.01 g
* 替代品：磷酸二氢钠（脱水）	12.0 g

Fraser 肉汤补充液

（每 10 mL 瓶的成分。一瓶被加入一升基础培养基。）

柠檬酸铁铵	0.5g/10mL
-------	-----------

最终 pH 值在 25°C 的环境下为 7.2 ± 0.2

3M™ 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有机物。未在分析裂解步骤中经过适当热处理的样品可以被视为潜在的生物危害，不应将其插入 3M 分子检测仪器。

3M 食品安全的设计和和生产已经获得 ISO（国际标准化组织）9001 认证。

3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌检测盒包含 96 个检测，如表 1 所述。

表 1. 检测盒组件

项目	标识	数量	内容物	备注
裂解溶液 (LS) 管	透明管中的粉红溶液	96 (8 管/12 条)	每管 580 µL LS	已上架并可以使用
单核细胞增生李斯特菌试剂管	黄色试管	96 (8 管/12 条)	冻干特定扩增和检测混合物	可以使用
附加盖	黄色盖	96 (8 盖/12 条)		可以使用
试剂对照 (RC)	翻盖空管	16 (2 袋，每袋 8 根管)	冻干对照 DNA、扩增和检测混合物	可以使用
快速入门指南		1		

阴性对照是无菌增菌培养基（如半 Fraser 肉汤），未在检测盒中提供。请勿将水用作阴性对照。



安全

用户应该阅读、理解并遵守 3M 分子检测系统和 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌说明中的所有安全信息。保存好安全说明书，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。

△ **小心：** 表示危险情况，如果不注意避免，可能造成轻度或中度人身伤害和/或财产损失。

注意事项： 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 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌。

3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌方法可生成单核细胞增生李斯特菌，若暴露其中，其数量足以导致死产和孕妇死亡及免疫系统受损。

用户必须就当前适用的检测技术对其人员进行培训：例如，优良实验室规范或 ISO 17025⁽⁴⁾ 或 ISO 7218⁽⁵⁾。

为了降低与假阴性结果关联的风险，避免释放出污染产品：

- 遵守方案并按照产品说明中提供的方法执行检测。
- 请按照包装和产品说明中的指示存储 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌。
- 始终在过期日期之前使用 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌。
- 将 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌用于经内部或第三方验证的食品和环境样品。
- 仅将 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌用于经内部或第三方验证的表面、消毒剂、方案和菌株。
- 对于包含带芳基磺化复合物的中和缓冲液的环境样品，请在检测前按 1:2 比例进行稀释（1 份样品对 1 份无菌培养肉汤）。含有中和缓冲液的 3M™ 样品处理产品：BPPFV10NB、RS96010NB、RS9604NB、SSL10NB、XSLSSL10NB、HS10NB 和 HS119510NB。

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：

- 强烈建议女性实验人员知悉暴露于单核细胞增生李斯特菌会导致因母亲感染增加成长胎儿的风险。
- 在训练有素的工作人员控制下，于妥善配备的实验室中执行病菌检测。
- 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眼睛防护装置。
- 扩增后避免接触增菌培养基和试剂管的内容物。
- 根据当前行业标准处置经过增菌的样品。

为了在准备分析时降低与交叉污染相关联的风险：

- 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联的风险，请注意以下事项：

- 处理污染的废物时遵循当前业界标准。

小心

- 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 3M™ 分子检测加热模块温度（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 3M 分子检测加热模块中的指定位置。

注意事项

为了在准备分析时降低与交叉污染相关联的风险：

- 建议使用无菌喷雾屏障（已过滤）分子生物级滴管针。
- 每次转移样品时使用新的滴管针。
- 采用优良实验室规范将样品从培养基转移至裂解管。为了避免滴管污染，用户可以选择增加一个中间转移步骤。例如，用户可以将每种经过增菌的样品转移至无菌管中。
- 在适用的地方使用配有杀菌灯的分子生物工作站。

为了降低假阳性结果的相关风险，请注意以下事项：

- 扩增后切勿打开试管。
- 处理污染的试管时始终将其在浓度为 1-5%（与水的比例为 v:v）家用漂白溶液中浸泡 1 个小时，且始终远离分析准备区。

请参考安全数据表了解其它信息和当地处置法规。

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.3M.com/foodsafety，也可与您当地的 3M 代表或经销商联系以获得帮助。



保证限制/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，3M 就所有明示或默示保证做出免责声明，包括但不限于适销性及适合某种特定用途的保证。如果证明任何 3M 食品安全产品存在缺陷，3M 或其授权经销商可以进行换货或者由其决定是否该产品进行退款。这些都是专门针对您而设计的解决方案。您必须在发现产品中存在任何可疑缺陷的 60 天内立即通知 3M，并将该产品退还给 3M。请致电客户服务部门（1-800-328-1671 美国）或联系您的 3M 食品安全官方代表以获得退货授权。

3M 责任限制

3M 不会对任何损失或损害负责，无论造成的损害是直接、间接、特殊、偶然或随后产生的，包括但不限于利润损失。根据法律理论 3M 对所谓存在缺陷的产品的赔付不可能超过产品的购买价格。

用户责任

用户负责熟悉产品说明和信息。请访问我们的网站 www.3M.com/foodsafety 或联系您当地的 3M 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、处理和实验室技术）都可能会影响结果。用户在选择检测方法时，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符合用户的标准。

检测方法及其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 3M 食品安全产品得到的结果，并不保证受检基质或程序的质量。

3M 已开发出 3M™ 分子检测基质对照检测盒用于帮助客户评估各种食品基质方法。在需要时，使用基质对照 (MC) 来确定基质能否影响 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌结果。在采用 3M 方法或在检测新的或未知基质或者原材料或工艺发生变更的基质的任何验证期间，检测若干典型基质样品，即通过不同来源获取的样品。

基质可定义为一种具备内源特性的产品（如化学成分或工艺）。基质间的差异是因加工或外观的不同而导致的差异，例如原材料和经过巴士消毒处理间的差异以及新鲜和干燥之间的差异。

存储和弃置

在 2-8°C 温度下存储 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌。请勿冰冻。避光存储检测盒。打开检测盒后，检查铝箔袋是否破损。如果破损，请不要使用。打开之后，未使用的试管应始终存储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存储在 2-8°C 温度下，但存储时间不能超过 60 天。

请勿使用过期的 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌。过期日期和批号注明在包装箱外侧的标签上。使用之后，培养基和 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌管可能会含有带菌材料。检测完成时，请遵照当前行业标准处置受污染废物。请参考安全数据表了解其它信息和当地处置法规。

使用说明

仔细遵循所有说明。否则，可能导致不准确的结果。

使用 1-5%（与水的比例为 v:v）家用漂白剂溶液或 DNA 去除溶液定期净化实验室工作台和设备（滴管、开盖器等）。

样品培养

表 2 提供了针对食品和环境样品的培养指导。用户有责任验证备用取样方案或稀释率，以确保本检测方法符合用户的标准。

食品

1. 将半 Fraser 肉汤培养基（包括柠檬酸铁铵）平衡到实验室环境温度。
2. 根据表 2 在无菌环境下将增菌培养基和样品混合起来。对于所有肉类和微粒样品，建议使用滤器包。
3. 采用混合、均质操作 (stomaching) 或手动混合进行混匀操作 2 ± 0.2 分钟。根据表 2 在 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 环境下进行培养。
4. 对于原料乳制品，转移 0.1mL 初步培养液至 10 mL 的 Fraser 肉汤。在 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 下培养 20-24 小时。



环境样品

样品采集设备可以是一块浸有中和溶液以消除消毒剂影响的海绵。3M 建议使用无菌纤维素海绵。中和溶液可以是 Dey-Engley (D/E) 中和肉汤或李氏肉汤。建议在取样后对区域消毒。

警告：如果您选择使用含芳基磺化复合物的中和缓冲液 (NB) 作为海绵的水合溶液，则必须在检测之前按 1:2 的比例稀释（1 份样品对 1 份无菌培养肉汤）增菌的环境样品，以降低导致受污染产品散布的假阴性结果的相关风险。

验证表面上是否存在病菌的建议取样区大小为至少 100 cm²（10 cm x 10 cm 或 4"x4"）。当使用海绵取样时，按两个方向覆盖整个区域（先从左到右，然后从上到下），或者按照您当前的取样方案或依照 FDA BAM⁽¹⁾、USDA FSIS MLG⁽²⁾ 或 ISO 18593⁽³⁾ 准则收集环境样品。

1. 将半 Fraser 肉汤培养基（包括柠檬酸铁铵）平衡到实验室环境温度。
2. 根据表 2 在无菌环境下将增菌培养基和样品混合起来。
3. 采用混合、均质操作 (stomaching) 或手动混合进行混匀操作 2 ± 0.2 分钟。在 37 ± 1°C 下培养 24-30 小时。

表 2：使用半 Fraser 肉汤增菌的培养方案

样品基质	样品大小	培养肉汤量 (mL)	培养温度 (°C)	培养时间 (小时)				
经过热处理、 烹调、腌制的 肉类、家禽肉、 海产品和鱼 经过热处理/巴氏 消毒的乳制品 农产品和蔬菜 多成分食品	25 g	225	37	24-30				
环境样品	1 块海绵	100 或 225	37	24-30				
	1 个药签	10	37	24-30				
生肉、家禽肉、 海产品和鱼	25 g	475	37	28-32				
样品基质	初步增菌（半 Fraser 肉汤）				二次增菌（Fraser 肉汤）			样品分析 量 ^(a)
	样品大小	培养肉汤量 (mL)	培养温度 (°C)	培养时间 (小时)	样品大小	培养温度 (°C)	培养时间 (小时)	
原料乳制品	25 g	225	37	20-24	将 0.1 mL 移 至 10 mL 的 Fraser 肉汤	37	20-24	10 μL

(a) 转移至裂解 (LS) 管的样品量。请参阅“裂解”部分的步骤 4.6。

3M™ 分子检测快速转移托盘的准备工作

1. 将一块干布用 1-5%（与水的比例为 v:v）家用漂白溶液浸湿，用来擦拭 3M™ 分子检测快速转移托盘。
2. 用清水清洗 3M 分子检测快速转移托盘。
3. 使用一次性纸巾擦干 3M 分子检测快速转移托盘。
4. 使用前确保 3M 分子检测快速转移托盘保持干燥。



3M™ 分子检测冷却架的准备工作

将 3M™ 分子检测冷却模块直接置于实验室工作台上；（3M™ 分子检测冷却模块托盘未使用）。在实验室环境温度下使用冷却模块 (20-25°C)。

3M™ 分子检测加热模块的准备工作

将 3M™ 分子检测加热模块放入干燥块加热器中。开启干燥模块加热装置并设定温度，使 3M 分子检测加热模块达到并保持 $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

注意：根据不同的加热器，允许 3M 分子检测加热模块使用约 30 分钟来达到工作温度。使用指定位置中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 3M 分子检测加热模块温度是否达到 $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

3M™ 分子检测仪器的准备工作

1. 启动 3M™ 分子检测软件并登录。
2. 打开 3M 分子检测仪器。
3. 使用数据为每种样品创建或编辑一次检测。请参考 3M 分子检测系统用户手册了解详细信息。

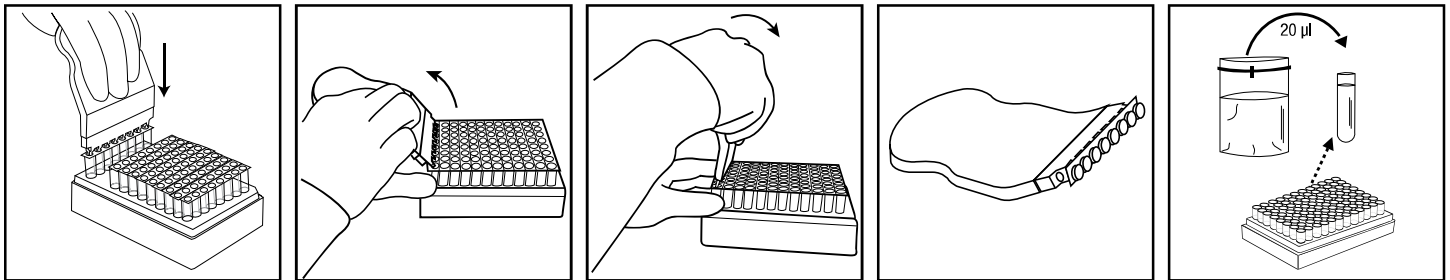
注意：插入带反应管的 3M 分子检测快速转移托盘前，3M 分子检测仪器必须达到并保持 60°C 。此加热步骤大概需要 20 分钟，由仪器状态栏中的一个橙色灯进行指示。当仪器准备好启动一次检测时，状态栏将变为绿色。

裂解

1. 将管架置于室温 (20-25 °C) 一整夜 (16-18 小时)，让裂解 (LS) 管热身。使 LS 管平衡到室温的另一种方法是将 LS 管放在实验室工作台上至少 2 小时、在 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养设备中培养 LS 管 1 小时或将其置于双干燥块加热器在 100°C 下持续 30 秒。
2. 使用之前，倒置封闭后的试管进行混合，最多持续 4 小时。
3. 从培养设备中取出培养肉汤。
4. 每种样品和每种阴性对照 (NC) 样品（无菌增菌培养基）需要一根 LS 管。
 - 4.1 可以将 LS 管条切割为需要的 LS 管数。选择单个 LS 管的数量或需要的 8 管条。将 LS 管放在空管架中。
 - 4.2 为了避免交叉污染，请一次只开一根 LS 管条的盖，并且每次转移时使用新的滴管针。
 - 4.3 按如下所述将经过增菌的样品转移到 LS 管：

首先将每种经过增菌的样品转移到单个 LS 管。最后转移 NC。

- 4.4 使用 3M™ 分子检测开盖器 - Lysis 打开 LS 管条的盖，一次只打开一条。
- 4.5 弃置 LS 管盖 - 如果保留溶菌液以重新检测，请将管盖放入清洁容器，以备裂解后重新使用。如需处理保留的溶菌液，请参阅附录 A。
- 4.6 将 20 μL 样品转移到 LS 管内，除非方案表中另有说明。
5. 重复步骤 4.2，直到将每个样品添加到条内对应的 LS 管为止。

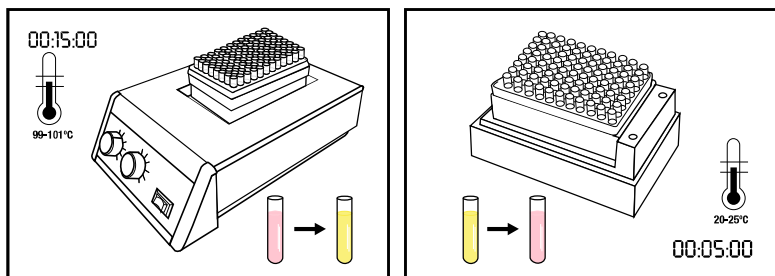


6. 根据需要要对进行检测的样品重复步骤 4.1 到 4.6。
7. 当转移完所有样品时，将 20 μL NC（无菌增菌培养基，如半 Fraser 肉汤）转移到一个 LS 管中。请勿将水用作 NC。
8. 检验 3M 分子检测加热模块的温度是否达到了 $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 。
9. 将无盖 LS 管架放在 3M 分子检测加热模块中加热 15 ± 1 分钟 (b)。加热期间，LS 将从粉红（冷）变为黄色（热）。

未在分析裂解步骤中经过适当热处理的样品可以被视为潜在的生物危害，不应将其插入 3M 分子检测仪器。
10. 从加热块中取出无盖 LS 管架，将其放进 3M 分子检测冷却架冷却最短 5 分钟，最长 10 分钟。3M 分子冷却架用于没有分子检测冷却模块托盘的环境温度下，应直接置于实验室工作台之上。冷却后，裂解液将恢复为粉红色。



11. 从 3M 分子检测冷却架上移除 LS 管架。



扩增

1. 每种样品和每种 NC 需要一根试剂管。

1.1 可以将试剂管条切割为需要的管数。选择单个试剂管的数量或需要的 8 管条。

1.2 将试剂管放在空管架中。

1.3 请勿将小试剂球搅离管底。

2. 选择 1 根试剂对照 (RC) 管并放入管架。

3. 为了避免交叉污染，请一次只开一根试剂管条的盖，并且每次转移时使用新的滴管针。

4. 按如下所述将溶菌液转移到试剂管和 RC 管：

将每种样品溶菌液先转移到单个试剂管，接着转移到 NC。最后水合 RC 管。

5. 使用 3M™ 分子检测开盖器 - Reagent 打开试剂管的盖，一次只打开一根试剂管条。丢弃盖子。

5.1 将 LS 管的 20 μ L 样品溶菌液转移到对应的试剂管。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，直到将单个样品添加到条内对应的试管为止。

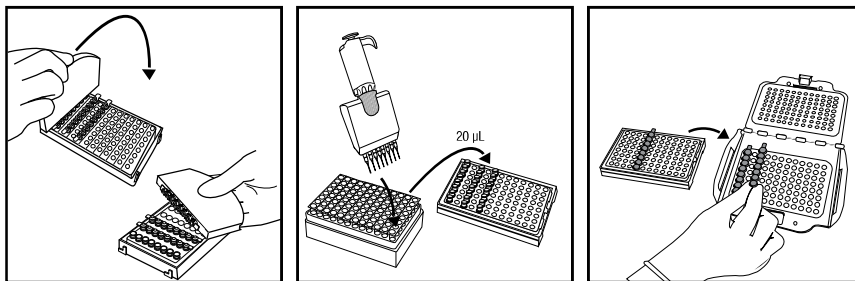
5.3 使用附加盖盖住试剂管并使用 3M 分子检测开盖器 - Reagent 较圆的一侧以前后移动的方式加压，以确保将盖子盖紧。

5.4 根据需要对要进行检测的样品重复步骤 5.1。

5.5 当转移完所有样品溶菌液时，重复 4.1 以将 20 μ L NC 溶菌液转移到一个试剂管。

5.6 将 20 μ L NC 溶菌液转移到一个 RC 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. 将加盖的管装进干净和经过灭菌的 3M 分子检测快速转移托盘。关闭并锁定 3M 分子检测快速转移托盘盖。



7. 在 3M 分子检测软件中查看和确认配置的检测。

8. 在软件中单击“启动”按钮并选择使用的仪器。所选仪器的盖会自动打开。

9. 将 3M 分子检测快速转移托盘放入 3M 分子检测仪器并关闭盖，以启动分析。结果将在 75 分钟之内提供，但阳性结果可以更快检测到。

10. 分析完成后，从 3M 分子检测仪器中取出 3M 分子检测快速转移托盘，并通过将试管浸入 1-5%（与水的比例为 v:v）家用漂白溶液 1 小时并远离分析准备区来处置试剂管。

注意事项：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 的试剂管。这包括试剂对照管、试剂管和基质对照管。处理密封试剂时始终将其在浓度为 1-5%（与水的比例为 v:v）家用漂白溶液中浸泡 1 个小时，且始终远离分析准备区。

结果和说明

一种解释来自核酸扩增检测的光输出曲线的算法。软件会自动分析结果并根据不同结果用不同颜色标记。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。实时报告假定阳性结果，阴性结果和检查结果将在检测完成之后显示。

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)，开始从初步培养液转移至二次培养肉汤（如果适用），然后利用正确的生化和血清方法对分离菌进行检测和确认。



注意：因为系统和 3M 单核细胞增生李斯特菌分子检测分析 2 - 单核细胞增生李斯特菌扩增试剂带有“背景”相对光单位 (RLU)，即使阴性样品也不会给出零读数。

在任何不正常光输出的极少情况下，该算法标签显示为“检查”。3M 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确认检测

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.3M.com/foodsafety，也可与您当地的 3M 代表或经销商联系以获得帮助。

参考资料：

1. 美国食品药品监督管理局微生物分析手册。第 10 章：食品中单核细胞增生李斯特菌的检测和计数。C-6 部分。2011 年 4 月版。
2. 美国农业部 (USDA) FSIS 微生物实验室指南 8.08。红肉、家禽肉、鸡蛋和环境样品的单核细胞增生李斯特菌分离与鉴定。生效日期：2012 年 11 月 6 月。
3. ISO 11290-1。食品和动物饲料微生物 - 检测和计数单核细胞增生李斯特菌属的水平方法。附录 1，2004-10-15。
4. ISO/IEC 17025。用于检验和定标实验室能力的一般要求。
5. ISO 7218。食品和动物饲料微生物 - 微生物检验用一般规则。
6. ISO 18593。食品和动物饲料微生物 - 使用连接板和药签从表面取样的水平方法。

附录 A. 方案中断：储存并重新检测热处理后的溶菌液

1. 如需储存热处理后的溶菌液，用干净盖子为裂解管重新盖上盖子（请参阅 4.5：“裂解”）。
2. 在 4 至 8°C 下存放 72 小时。
3. 倒置 2-3 次进行混合，借此准备用以扩增的储存样品。
4. 打开管盖。
5. 将混合后的溶菌液管置于 3M 分子检测加热模块并在 $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 温度下加热 5 ± 1 分钟。
6. 从加热块中取出无盖 LS 管架，将其放进 3M 分子检测冷却架冷却最短 5 分钟，最长 10 分钟。
7. 继续执行上文详述的“扩增”部分的方案。

产品标签符号释义



小心或警告，参见产品说明。



参考产品说明。



箱中的批代表批号。



后面带有月份和年份的沙漏代表过期日期。



存储温度限制。

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌

產品說明書及用途

3M™ 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌與 3M™ 分子檢測系統一起使用，用於快速、專門檢測加工食品和環境樣本中的李斯特菌。

3M 分子檢測套組採用環介導等溫擴增放大技術來快速擴增放大具有高特異性和高敏感性的核酸序列，結合使用生物發光特性來檢測擴增放大。及時呈現假定陽性結果，陰性結果則在檢測完畢後呈現。應該使用您喜歡的方法或按照當地法規指定的方法確認假定陽性結果^(1,2,3)。

3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌專供受過實驗室技術培訓的專業人員在實驗室環境下使用。對於在食品或飲料以外的樣本中使用此產品，3M 尚未有資料可證。例如，對於此產品用於檢測水樣、制藥、化妝品、臨床或家畜樣本，3M 尚未有資料可證。3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌尚未針對所有可能的檢測方法或針對所有可能的細菌類型做出評估。

對於所有檢測方法，所使用的增殖培養液都可能影響結果。3M 已採用包含檸檬酸鐵銨的半 Fraser 培養液對 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌進行評估。該培養液的典型配方請見下文。

半 Fraser 培養液基礎典型配方 (g/L)

氯化鈉	20 g
磷酸一氫鈉（無水）*	9.6 g
濃縮牛肉汁	5.0 g
酪蛋白胰酶消化物	5.0 g
動物組織胃蛋白酶消化物	5.0 g
酵母抽提物	5.0 g
氯化鋰	3.0 g
磷酸二氫鉀	1.35 g
馬栗樹糖	1.0 g
鹽酸吡啶黃	0.0125 g
那利敵新錠	0.01 g
* 替代品：磷酸一氫鈉（脫水）	12.0 g

Fraser 培養液補充劑

（每 10 mL 瓶的成分。一瓶被加入一升基礎培養液。）

檸檬酸鐵銨	0.5g/10mL
-------	-----------

最終 pH 值在 25°C 的環境下為 7.2 ± 0.2

3M™ 分子檢測設備專用於在溶菌步驟中經過熱處理的樣本，該步驟旨在破壞樣本中存在的有機物。未在溶菌步驟中經過適當熱處理的樣本可以被視為潛在的生物危害，不應將其插入 3M 分子檢測設備。

3M 食品安全的設計和生產已經獲得 ISO（國際標準化組織）9001 認證。

3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌檢測盒可做 96 個樣本，如表 1 所述。

表 1. 檢測盒組件

書目	標識	數量	內容物	備註
溶菌試管 (LS)	透明管中的粉紅溶液	96 (8 管/12 條)	每管 580 μL LS	已置於溶菌試管架，直接使用
單增李斯特菌試劑小管	黃色試管	96 (8 管/12 條)	凍乾特定擴增放大和檢測混合物	直接使用
附加蓋	黃色蓋	96 (8 蓋/12 條)		直接使用
對照組試劑 (RC)	透明翻蓋管	16 (2 袋，每袋 8 根管)	冷凍乾燥對照核酸、擴增放大和檢測混合物	直接使用
快速入門指引		1		

陰性對照是無菌增殖培養液（如半 Fraser 培養液），未在檢測盒中提供。請勿將水用作陰性對照。



安全

使用者應該閱讀、理解並遵循 3M 分子檢測系統和 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌說明中的所有安全資訊。請保留安全操作指引以便將來作參考之用。

⚠ **警告：** 顯示危險情形，如果不可避免的話，會導致死亡或嚴重的身體傷害及/或財產的損害。

⚠ **小心：** 顯示危險情形，如果不可避免的話，會導致輕微或中等的身體傷害及/或財產的損害。

提醒： 顯示可能危險情形，如果不可避免的話，可能導致財產損失。

⚠ 警告

請勿在人類或動物的各種診斷中使用 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌。

3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌方法可生成單增李斯特菌，若暴露其中，其數量足以導致死產和孕婦死亡及免疫系統受損。

使用者必須就當前適用的檢測技術對其人員進行培訓：例如，優良實驗室規範 ISO 17025⁽⁴⁾ 或 ISO 7218⁽⁵⁾。

為了降低與假陰性結果關聯的風險，避免釋放出污染產品：

- 遵循並按照產品說明書中所述執行測試。
- 請按照包裝和產品說明書中的指示儲存 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌。
- 始終在過期日期之前使用 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌。
- 將 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌用於經由內部或第三方公證單位驗證的食品和環境樣本。
- 僅將 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌用於經由內部或第三方公證單位驗證的表面、消毒清潔劑、方法和菌種。
- 對於包含帶芳基磷酸酯複合物的中和緩衝液的环境樣本，請在檢測前進行 1:2 的稀釋（1 份樣本配 1 份無菌增殖培養液）。3M™ 樣本處理產品，其中包含中和緩衝液：BPPFV10NB、RS96010NB、RS9604NB、SSL10NB、XSLSSL10NB、HS10NB 和 HS119510NB。

為了減少與化學品和生物危害曝露相關聯的風險，請注意以下事項：

- 女性實驗人員必須瞭解或被告知若暴露於單增李斯特菌會導致母親因感染而造成死胎的風險。
- 在受過培訓人員的監控下，在配備完善的實驗室中執行病原體測試。
- 始終遵循標準實驗室安全規範，包括在處理試劑和污染的樣本時穿戴合適的保護服裝和眼罩。
- 擴增放大後避免接觸增殖培養液和試劑試管的內容物。
- 根據當前業界標準丟棄增殖後的樣本。

為了在準備套組時降低與交叉污染相關聯的風險，請注意以下事項：

- 始終戴手套（保護使用者和防止核酸酵素污染）。

為了減少污染環境相關風險，請注意以下事項：

- 請遵循業界的污染廢物棄置標準。

⚠ 小心

- 不要超出建議的溫度設定。
- 不要超出建議的加熱時間。
- 使用正確的經過校準的溫度計檢驗 3M™ 分子檢測加熱塊植入溫度（如局浸溫度計或熱電偶數字溫度計，而非全浸溫度計）。溫度計必須放置於 3M 分子檢測加熱塊植入中的指定位置。

注意事項

為了在準備套組時降低與交叉污染相關聯的風險，請注意以下事項：

- 建議使用無菌噴霧屏障（已過濾）分子生物級滴管針。
- 每次轉移樣本時使用新的滴管針。
- 採用優良實驗室規範將樣本從增殖培養液轉移至溶菌試管。為了避免滴管污染，使用者可以選擇增加一個中間轉移步驟。例如，使用者可以將每種經過增殖的樣本轉移至無菌試管中。
- 在適用的地方使用包含殺菌燈的分子生物操作臺。

為了降低假陽性的風險，請注意以下事項：

- 擴增放大後切勿打開試管。
- 處理污染的試管時始終將其濃度為 1-5%（與水的比例為 v:v）家用漂白溶液中浸泡 1 個小時，且始終遠離套組準備區。

相關資訊和當地處理法規，請查閱安全資料表。

如果您對於特定的應用或程序存有疑問，請訪問我們的網站 www.3M.com/foodsafety，亦可與您當地的 3M 代表或經銷商聯絡。



保固限制/有限補償

除非各個產品包裝的有限保固部分明確聲明，3M 否認所有明示和暗示保固，包括但不局限於為了特定用途的任何適銷性或適切性保固。如果 3M 食品安全產品損壞，3M 或其授權經銷商將可選擇更換或退還產品的採購價款。這是您的除外補償。您必須在發現產品中任何疑似缺陷的六十天內及時通知 3M，並將其退回 3M。請致電客戶服務部門 (1-800-328-1671，美國) 或您的正式 3M 食品安全代表，以瞭解退回商品授權。

3M 責任限制

3M 對任何損失或損壞概不負責，無論是直接、間接、特殊、偶發或因果性損壞，包括但不局限於利潤損失。在任何情況下，任何法律理論下的 3M 責任超出被指有缺陷的產品採購價款。

使用者責任

使用者負責熟悉產品說明和資訊。請造訪我們的網站 www.3M.com/foodsafety 或聯絡您當地的 3M 代表或經銷商，以瞭解詳細資訊。

選取檢測方法時，務必認識到各種外部要素（如取樣方法、檢測協議、樣本製備、處理和實驗室技術）都可能影響結果。

使用者在選取檢測方法或產品時，應自行負責選用合適的基質和微生物激發試驗對足夠多的樣本進行評估，以確保所選擇的檢測方法符合使用者的標準。

檢測方法及結果能否滿足客戶或供應商的要求也由使用者負責。

同所有檢測方法一樣，使用任何 3M 食品安全產品得到的結果，並不保證受檢基質或程序的品質。

3M 已開發出 3M™ 分子檢測基質控制檢測盒用於幫助客戶評估各種食品基質方法。在需要時，使用基質控制 (MC) 來確定基質能否影響 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌結果。在採用 3M 方法或在檢測新的或未知樣本或者原材料或工藝發生變更的樣本的任何驗證期間，檢測若干典型基質樣本，即透過不同來源獲取的樣本。

基質可定義為一種具備內源特性的產品（如化學成分或工藝）。基質間的差異是因加工或外觀的不同而導致的差異，例如原材料和經過巴氏滅菌處理間的差異以及新鮮和乾燥之間的差異。

儲存和棄置

在 2-8°C 溫度下儲存 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌。請勿冰凍。避光儲存檢測盒。打開檢測盒後，檢查鋁箔袋是否破損。如果破損，請勿使用。打開之後，未使用的試劑試管應儲存在內部帶有乾燥劑的可重新密封鋁箔袋中，以保持冷凍乾燥試劑的穩定性。將重新密封的鋁箔袋儲存在 2-8°C 溫度下，但儲存時間不能超過 60 天。

請勿使用過期的 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌。過期日期和批號註明在包裝箱外側的標籤上。使用之後，增殖培養液和 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌管可能有病原菌污染的風險。檢測完畢時，請遵照業界標準棄置受污染廢物。相關資訊和當地處理法規，請查閱安全資料表。

操作指引

仔細遵循所有說明。否則，可能導致不準確的結果。

使用 1-5%（與水的比例為 v:v）家用漂白劑溶液或 DNA 去除溶液，定期淨化實驗室工作臺和設備（微量吸管、上蓋/開蓋工具等）。

樣本增殖

表 2 提供了針對食品與環境樣本的增殖指引。使用者有責任驗證備用取樣方案或稀釋率，以確保本檢測方法符合使用者的標準。

食品

1. 將半 Fraser 培養液（包括檸檬酸鐵銨）平衡到實驗室環境溫度。
2. 根據表 2 在無菌環境下將增殖培養液和樣本混合起來。對於所有肉類和微粒樣本，建議使用有濾網的鐵胃袋。
3. 採用混合、均質作業 (stomaching) 或手動混合進行混勻作業 2 ± 0.2 分鐘。根據表 2 在 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 環境下進行培養。
4. 對於原料乳製品，請轉移 0.1 mL 初步增殖液至 10 mL 的 Fraser 培養液。在 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 下培養 20-24 小時。



環境樣本

樣本採集可以是一塊浸有中和溶液以消除消毒劑影響的海綿。3M 建議使用無菌纖維素海綿。中和溶液可以是 Dey-Engley (D/E) 中和培養液或李氏培養液。建議在取樣後對區域消毒。

警告： 如果您選擇使用含芳基磺酸酯複合物的中和緩衝液 (NB) 作為海綿的水合溶液，則必須在檢測之前按 1:2 的比例稀釋（1 份樣本配 1 份無菌增殖培養液）增殖的環境樣本，以降低假陰性結果的相關風險。

驗證表面上是否存在病原菌的建議取樣區大小為至少 100 cm² (10 cm x 10 cm 或 4"x4")。當使用海綿取樣時，按兩個方向覆蓋整個區域（先從左到右，然後從上到下），或者按照您當前的取樣方案或 FDA BAM⁽¹⁾、USDA FSIS MLG⁽²⁾ 或 ISO 18593⁽⁶⁾ 收集環境樣本。

1. 將半 Fraser 培養液（包括檸檬酸鐵銨）平衡到實驗室環境溫度。
2. 根據表 2 在無菌環境下將增殖培養液和樣本混合起來。
3. 採用混合、均質作業 (stomaching) 或手動混合進行混勻作業 2 ± 0.2 分鐘。在 37 ± 1°C 下培養 24-30 小時。

表 2： 使用半 Fraser 培養液增殖的培養方法

樣本基質	樣本大小	增殖培養液量 (mL)	增殖溫度 (°C)	增殖時間 (小時)				
經過熱處理、烹調、醃制的肉類、家禽肉、海產品和魚	25 g	225	37	24-30				
環境樣本	1 塊海綿	100 或 225	37	24-30				
	1 個藥簽	10	37	24-30				
生肉、家禽肉、海產品和魚	25 g	475	37	28-32				
樣本基質	初步增殖（半 Fraser 培養液）				二次增殖（Fraser 培養液）			樣本分析量 ^(a)
	樣本大小	增殖培養液量 (mL)	增殖溫度 (°C)	增殖時間 (小時)	樣本大小	增殖溫度 (°C)	增殖時間 (小時)	
原料乳製品	25 g	225	37	20-24	將 0.1 mL 移至 10 mL 的 Fraser 培養液	37	20-24	10 µL

(a) 轉移至溶菌試管的樣本量。請參閱「溶菌」部分的步驟 4.6。



準備 3M™ 分子檢測快速載入器托盤

1. 將一塊乾布用 1-5%（與水的比例為 v:v）家用漂白溶液浸濕，用來擦拭 3M™ 分子檢測快速載入器托盤。
2. 用清水清洗 3M 分子檢測快速載入器托盤。
3. 使用一次性紙巾擦乾 3M 分子檢測快速載入器托盤。
4. 使用前確保 3M 分子檢測快速載入器托盤保持乾燥。

準備 3M™ 分子檢測冷卻塊植入

將 3M™ 分子檢測冷卻塊直接置於實驗室工作臺上；（3M™ 分子檢測冷卻塊托盤未使用）。在實驗室環境溫度下使用冷卻塊（20-25°C）。

準備 3M™ 分子檢測加熱塊植入

將 3M™ 分子檢測加熱塊植入放入乾式加熱器中。開啟乾式加熱器並設定溫度，使 3M 分子檢測加熱塊植入達到並保持 $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

注意：根據不同的乾式加熱器，允許 3M 分子檢測加熱塊植入使用約 30 分鐘來達到工作溫度。使用指定位置中的正確的經過校準的溫度計（如局浸溫度計或熱電偶數字溫度計，而非全浸溫度計）檢驗 3M 分子檢測加熱塊植入溫度是否達到 $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

準備 3M™ 分子檢測設備

1. 啟動 3M™ 分子檢測軟體並登入。
2. 打開 3M 分子檢測設備。
3. 使用資料為每種樣本建立或編輯一次檢測。請參考 3M 分子檢測系統使用者手冊瞭解詳細資訊。

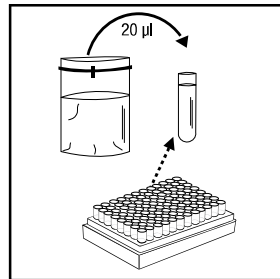
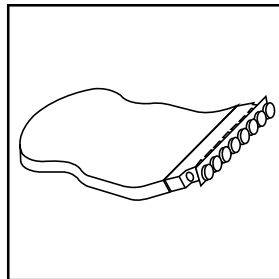
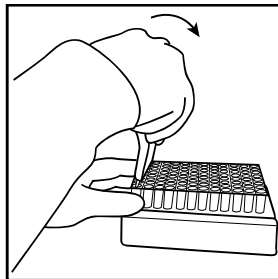
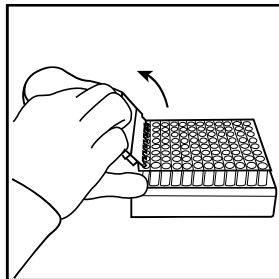
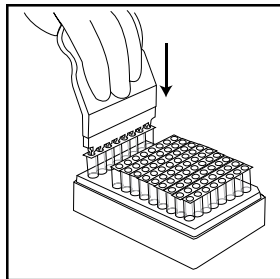
注意：放入帶反應管的 3M 分子檢測快速載入器托盤前，3M 分子檢測設備必須達到並保持 60°C 。此加熱步驟大概需要 20 分鐘，由儀器狀態條中以橙色燈表示尚進行加熱中。當儀器準備好啟動一次檢測時，狀態條將變為綠色。

溶菌

1. 將管架置於室溫（20-25 °C）一整夜（16-18 小時），讓溶菌（LS）試管熱身。使 LS 管平衡到室溫的另一種方法是將 LS 管放在實驗室工作臺上至少 2 小時、在 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 培養設備中培養 LS 管 1 小時或將其置於雙槽乾式加熱器在 100°C 下持續 30 秒。
2. 使用之前，倒置封閉後的試管進行混合，最多持續 4 小時。
3. 從培養設備中取出增殖培養液。
4. 每種樣本和每種陰性對照（NC）樣本（無菌增殖培養液）需要一根 LS 管。
 - 4.1 可以將 LS 管條切割為需要的 LS 管數。選擇單個 LS 管的數量或所需的 8 管條。將 LS 管放在空管架中。
 - 4.2 為了避免交叉汙染，請一次只開一排 LS 管的蓋子，並且每次轉移時使用新的滴管針。
 - 4.3 按如下所述將經過增殖的樣本轉移到 LS 管：

首先將每種經過增殖的樣本轉移到單個 LS 管。最後才轉移 NC。

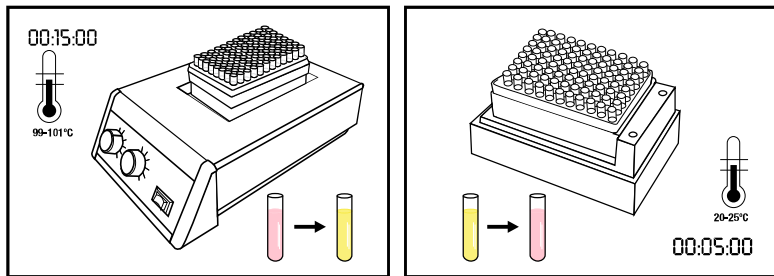
- 4.4 使用 3M™ 分子檢測上蓋/開蓋工具-Lysis 打開 LS 管的蓋子，一次只打開一排。
- 4.5 棄置 LS 管蓋 - 如果保留溶菌液以重新檢測，請將管蓋放入清潔容器，以備溶菌後重新使用。如需處理保留的溶菌液，請參閱附錄 A。
- 4.6 將 20 μL 樣本轉移到 LS 管內，除非方案表中另有說明。
5. 重複步驟 4.2，直到將每個樣本加到相對應的 LS 管為止。



6. 根據需要對要進行檢測的樣本重複步驟 4.1 到 4.6。
7. 當轉移完所有樣本時，將 20 μL 的 NC（無菌增殖培養液，如半 Fraser 培養液）轉移到一個 LS 管中。請勿將水用作 NC。
8. 檢驗 3M 分子檢測加熱塊植入的溫度是否達到了 $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 。



9. 將無蓋 LS 管架放在 3M 分子檢測加熱塊植入中加熱 15 ± 1 分鐘。加熱期間，LS 將從粉紅（冷）變為黃色（熱）。
未在溶菌步驟中經過適當熱處理的樣本可以被視為潛在的生物危害，不應將其插入 3M 分子檢測設備。
10. 從加熱塊中取出無蓋 LS 管架，將它放進 3M 分子檢測冷卻塊植入冷卻最短 5 分鐘，最長 10 分鐘。3M 分子冷卻模塊用於沒有分子檢測冷卻塊托盤的環境溫度下，應直接置於實驗室工作臺之上。冷卻後，溶菌液將恢復為粉紅色。
11. 從 3M 分子檢測冷卻塊植入上移除 LS 管架。

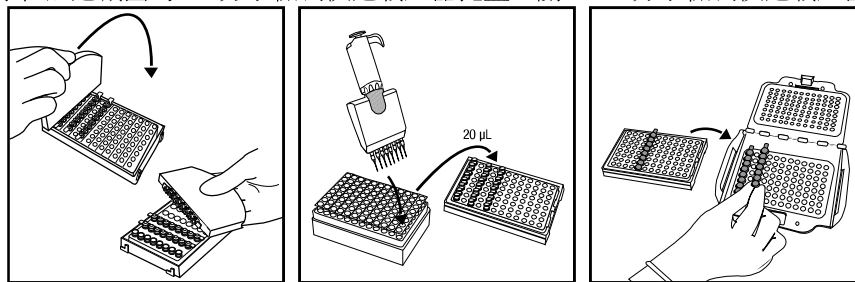


擴增放大

1. 每種樣本和每種 NC 需要一個試劑試管。
 - 1.1 可以將試劑試管條切割為需要的管數。選擇單個試劑試管的數量或需要的 8 管條。
 - 1.2 將試劑試管放在空管架中。
 - 1.3 請勿將小試劑球攪離管底。
2. 選擇 1 根對照組試劑 (RC) 管並放入管架。
3. 為了避免交叉汙染，請一次只開一排試劑試管的蓋子，並且每次轉移時使用新的滴管針。
4. 按如下所述將溶菌液轉移到試劑試管和 RC 管：

將每種樣本溶菌液先轉移到單個試劑試管，接著轉移到 NC。最後水合 RC 管。

5. 使用 3M™ 分子檢測上蓋/開蓋工具-Reagent 打開試劑試管的蓋子，一次只打開一排。丟棄蓋子。
 - 5.1 將 LS 管的 20 μ L 樣本溶菌液轉移到對應的試劑試管。沿邊緣注入，以避免攪動小球。輕輕地上下吸動 5 次，以充分混合。
 - 5.2 重複步驟 5.1，直到將單個樣本轉移到相對應的試劑試管為止。
 - 5.3 使用試劑試管附加蓋蓋住試劑試管並使用 3M 分子檢測上蓋/開蓋工具-Reagent 較圓的一側以前後移動的方式加壓，以確保將蓋子蓋緊。
 - 5.4 根據需要對要進行檢測的樣本重複步驟 5.1。
 - 5.5 當轉移完所有樣本溶菌液時，重複 4.1 將 20 μ L NC 溶菌液轉移到一個試劑試管。
 - 5.6 將 20 μ L NC 溶菌液轉移到一個 RC 管。沿邊緣注入，以避免攪動小球。輕輕地上下吸動 5 次，以充分混合。
6. 將加蓋的試管裝進乾淨和經過滅菌的 3M 分子檢測快速載入器托盤。關上 3M 分子檢測快速載入器托盤蓋。



7. 在 3M 分子檢測軟體中檢視和確認配置的檢測。
8. 在軟體中按一下「開始」按鈕並選擇使用的儀器。所選儀器的蓋子會自動打開。
9. 將 3M 分子檢測快速載入器托盤放入 3M 分子檢測設備並關閉蓋子，以啟動檢測。結果將在 75 分鐘之內呈現，但陽性結果可以及時呈現。
10. 檢測完成後，從 3M 分子檢測設備中取出 3M 分子檢測快速載入器托盤，並將使用過的試管浸入 1-5%（與水的比例為 v:v）家用漂白溶液 1 小時並遠離套組準備區來處置。



提醒：為了將因為交叉汙染而導致的假陽性結果風險降至最低，請勿打開內裝有核酸序列的試劑試管。這包括對照組試劑、試劑試管和基質控制管。將密封的試劑試管浸入 1-5%（與水的比例為 v:v）家用漂白溶液 1 小時並遠離套組準備區來處置。

結果和說明

一種解釋來自核酸擴增放大檢測的光輸出曲線的演算法。軟體會自動分析結果並根據不同結果用不同顏色標記。透過分析一系列獨一無二的曲線參數可以確定陽性結果或陰性結果。假定陽性結果可及時得知，陰性結果和再確認結果將在檢測完成之後顯示。

假定陽性樣本應當遵循實驗室標準操作規程或正確的參考方法進行確認^(1,2,3)，開始從初步增殖培養液轉移至二次增殖培養液（若適用），然後利用正確的生化 and 血清方法對分離菌進行檢測和確認。

注意：因為系統和 3M 分子檢測套組 2 - 單增李斯特菌擴增放大試劑帶有「背景」相對光單位 (RLU)，即使陰性樣本也不會給出零讀數。

在任何不正常光輸出的極少情形下，該演算法標籤顯示為「再確認」。3M 建議使用者對所有「再確認」樣本重新進行分析。如果結果仍為「再確認」，請使用您喜歡的方法或按照當地法規指定的方法確認檢測。

如果您對於特定的應用或程序存有疑問，請訪問我們的網站 www.3M.com/foodsafety，亦可與您當地的 3M 代表或經銷商聯絡。

參考：

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

附錄 A. 方案中斷：儲存並重新檢測熱處理後的溶菌液

1. 如需儲存熱處理後的溶菌液，用乾淨蓋子為溶菌試管重新蓋上蓋子（請參閱 4.5：「溶菌」）。
2. 在 4 至 8°C 下儲存 72 小時。
3. 倒置 2-3 次進行混合，藉此準備用以擴增放大的儲存樣本。
4. 打開管蓋。
5. 將混合後的溶菌液管置於 3M 分子檢測加熱塊植入並在 100 ± 1°C 溫度下加熱 5 ± 1 分鐘。
6. 從加熱塊中取出無蓋 LS 管架，將它放進 3M 分子檢測冷卻塊植入冷卻最短 5 分鐘，最長 10 分鐘。
7. 繼續執行上文詳述的「擴增放大」部分的方案。

產品標籤符號註解



小心或警告，參見產品說明書。



參考產品說明書。



箱中的批次代表批號。



後面帶有月份和年份的沙漏代表過期日期。



貯藏溫度限制。

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

คำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์

ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีเนส ระดับโมเลกุล2

MDA2LM096

คำอธิบายและจุดมุ่งหมายในการใช้ผลิตภัณฑ์

ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M™ ใช้งานร่วมกับระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™ เพื่อตรวจหาเชื้อลิสทีเรียในตัวอย่างอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อและตัวอย่างจากสภาพแวดล้อมได้อย่างรวดเร็วและเฉพาะเจาะจง

ชุดทดสอบเพื่อการตรวจหาระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M ใช้การเพิ่มปริมาณที่อุณหภูมิเดียวเพื่อขยายช่วงตอนของกรดนิวคลีอิกด้วยวิธีที่เฉพาะและละเอียดอ่อน ผสมผสานกับการเรืองแสงทางชีวภาพเพื่อตรวจการเพิ่มขยายจำนวนของเชื้อโรค ผลที่สันนิษฐานว่าเป็นบวกจะมีการรายงานในทันที ขณะที่ผลที่เป็นลบจะแสดงผลหลังจากที่การทดสอบดังกล่าวเสร็จสมบูรณ์แล้ว ผลที่สันนิษฐานว่าเป็นบวกควรได้รับการยืนยันโดยใช้วิธีที่ท่านเห็นสมควรหรือตามที่ระบุไว้ในระเบียบข้อบังคับระดับท้องถิ่น^(1, 2, 3)

ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M ถูกออกแบบมาให้ใช้ในห้องปฏิบัติการโดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ผ่านการอบรมเทคนิคการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ บริษัท 3M ยังไม่ได้บันทึกเอกสารเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์นี้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ นอกจากอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องดื่ม ตัวอย่างเช่น 3M ยังไม่ได้ออกเอกสารเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์สำหรับการทดสอบตัวอย่างน้ำ ตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างเกี่ยวกับสัตว์ ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M ยังไม่ผ่านการประเมินด้านมาตรฐานการทดสอบทั้งหมดหรือสายพันธุ์ที่เป็นไปได้ทั้งหมดของแบคทีเรีย

แหล่งที่มาของอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อสามารถส่งผลกระทบต่อผลที่ได้จากวิธีการทดสอบทั้งหมด 3M ได้ประเมินชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M กับเคมีเฟรเซอร์รอปทที่มีส่วนผสมของเพอร์ริกแอมโมเนียมซัลเฟต สูตรโดยทั่วไปของอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไม่มีดังนี้

สูตรทั่วไปของเคมีเฟรเซอร์รอปทเบส (ก./ล.)

โซเดียมคลอไรด์	20 ก.
โซเดียมฟอสเฟต, ไดเบสิก, แอนไฮดรัส*	9.6 ก.
สารสกัดจากเนื้อวัว	5.0 ก.
เคซีนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์จากตับอ่อน	5.0 ก.
เนื้อเยื่อสัตว์ที่ย่อยแล้ว	5.0 ก.
สารสกัดจากยีสต์	5.0 ก.
ลิเทียมคลอไรด์	3.0 ก.
โมโนเบสิก โพแทสเซียมฟอสเฟต	1.35 ก.
เอสคูลิน	1.0 ก.
อะคริเฟลวินไฮโดรคลอไรด์	0.0125 ก.
กรดนาลิดิซิก	0.01 ก.
* สารทดแทน: โซเดียมฟอสเฟต, ไดเบสิก, ดีไฮเดรต	12.0 ก.

สารเสริมเฟรเซอร์รอปท

(ส่วนผสมต่อขวดขนาด 10 มล. เติมสารเสริมหนึ่งขวดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเบซัลหนึ่งลิตร)

เพอร์ริกแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 ก./10 มล.

ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 7.2 ± 0.2 ที่ 25°C

เครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™ มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้กับตัวอย่างที่ผ่านความร้อนในระหว่างขั้นตอนการไลซิส ชุดทดสอบซึ่งออกแบบมาเพื่อทำลายเชื้อโรคที่อยู่ในตัวอย่าง ตัวอย่างซึ่งไม่ได้รับความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการไลซิสชุดทดสอบอาจจะถือว่าเป็นสารที่อาจมีอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M

ชุดทดสอบอาหารปลอดภัย 3M ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO (องค์การระหว่างประเทศว่าด้วยการมาตรฐาน) 9001 ด้านการออกแบบและการผลิต

ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M มีทั้งหมด 96 ชุดตามที่อธิบายไว้ในตารางที่ 1

ตาราง 1 ส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์

รายการ	ลักษณะ	จำนวน	สิ่งที่บรรจุภายใน	หมายเหตุ
หลอดสารละลายไลซิส (LS)	สารละลายลิซิมพูในหลอดใส	96 หลอด (12 แถว แถวละ 8 หลอด)	LS 580 มล. ต่อหลอด	บรรจุอยู่ในที่วางและพร้อมใช้งาน
หลอดรีเอเจนท์ลิสทีเรีย โมโนไซโตจีเนส	หลอดสีเหลือง	96 หลอด (12 แถว แถวละ 8 หลอด)	ส่วนผสมสำหรับการเพิ่มขยายและการตรวจหาเชื้อโรคแบบเฉพาะเจาะจงที่ทำแห้งเยือกแข็งแล้ว	พร้อมใช้งาน
ฝาสารอง	ฝาสีเหลือง	96 หลอด (12 แถว แถวละ 8 ฝา)		พร้อมใช้งาน
รีเอเจนต์คอนโทรล (RC)	หลอดใสชนิดเปิดฝาด้านบน	16 หลอด (2 ช่อง ช่องละ 8 หลอด)	ส่วนผสมที่ทำแห้งเยือกแข็งแล้วสำหรับการเพิ่มและการตรวจหา DNA ที่เป็นมาตรฐานเทียบ	พร้อมใช้งาน
คู่มือแนะนำฉบับย่อ		1		

ชุดควบคุมผลลเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดพิเศษสำหรับเชื้อที่เลี้ยงยาก (enrichment medium) ปลอดเชื้อ เช่น เดมิ-เฟรเซอร์บรอกท ไม่ได้รวมอยู่ในชุดอุปกรณ์ ห้ามใช้น้ำเป็นตัวควบคุมผลล

ความปลอดภัย

ผู้ใช้อ่าน ทำความเข้าใจและปฏิบัติตามข้อมูลความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำการใช้งานระบบทดสอบเชื้อก่อโรครดับโมเลกุลโดยวิธี 3M และชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีนเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M เก็บคำแนะนำด้านความปลอดภัยนี้ไว้สำหรับใช้อ้างอิงในอนาคต

⚠ **คำเตือน:** แสดงสถานการณ์ที่เป็นอันตรายซึ่งหากไม่หลีกเลี่ยงอาจก่อให้เกิดการเสียชีวิตหรือการบาดเจ็บรุนแรงและ/หรือความเสียหายต่อทรัพย์สิน

⚠ **ข้อควรระวัง:** แสดงสถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดการบาดเจ็บเล็กน้อยหรือปานกลางและ/หรือความเสียหายต่อทรัพย์สิน

ข้อสังเกต: แสดงถึงสถานการณ์ที่อาจเป็นอันตรายซึ่งไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อทรัพย์สิน

⚠ คำเตือน

ห้ามใช้ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีนเนสระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M ในการวินิจฉัยโรคในมนุษย์หรือสัตว์

วิธีการทดสอบโดยใช้ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีนเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M อาจก่อให้เกิดเชื้อลิสทีเรียโมโนไซโตจีนเนสใน ระดับที่มากพอที่เป็นสาเหตุของภาวะตายคลอดและทารกเสียชีวิตในครรภ์ และภูมิคุ้มกันผิดปกติหากได้รับเชื้อ

ผู้ใช้งานต้องฝึกอบรมบุคลากรของตนเกี่ยวกับเทคนิคการทดสอบที่ถูกต้องเหมาะสมในปัจจุบัน ตัวอย่างเช่น แนวปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการที่ ISO 17025⁽⁴⁾ หรือ ISO 7218⁽⁵⁾

เพื่อลดความเสี่ยงอันเกี่ยวข้องกับผลลที่เป็นเท็จซึ่งนำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนออกสู่ภายนอก ให้ปฏิบัติตามนี้

- ปฏิบัติตามเกณฑ์วิธีและดำเนินการทดสอบดังที่ระบุไว้อย่างชัดเจนในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- เก็บชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีนเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M ตามที่ระบุไว้บนบรรจุภัณฑ์และในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- ใช้ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีนเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M ก่อนวันหมดอายุเสมอ
- ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีนเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M กับตัวอย่างในสิ่งแวดล้อมและตัวอย่างอาหารที่ผ่านการตรวจสอบภายในหรือโดยบุคคลที่สามแล้วเท่านั้น
- ใช้ชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีนเนส ระดับโมเลกุล2 โดยวิธี 3M กับพื้นผิว สารฆ่าเชื้อ ขั้นตอนวิธี และสายพันธุ์แบคทีเรียซึ่งผ่านการตรวจสอบภายในหรือโดยบุคคลที่สามเท่านั้น
- สำหรับตัวอย่างทางสภาพแวดล้อมที่มีบัฟเฟอร์ที่ทำให้เป็นกลางโดยมีสารประกอบเชิงซ้อนซัลโฟเนตอยู่ด้วย ให้ทำการเจือจางด้วยอัตราส่วน 1:2 ก่อนที่จะทดสอบ (เติม 1 ส่วนของตัวอย่างลงใน 1 ส่วนของอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว) ซึ่งผลิตภัณฑ์ควบคุมตัวอย่างของ 3M™ มีดังต่อไปนี้: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSSL10NB, HS10NB และ HS119510NB

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารเคมีหรือสารอันตรายทางชีวภาพ ให้ปฏิบัติตามนี้

- ขอแนะนำให้แจ้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่เป็นเหตุถึงความเสี่ยงต่อพัฒนาการของทารกในครรภ์จากการติดเชื้อของมารดาผ่านการสัมผัสกับเชื้อลิสทีเรีย โมโนไซโตจีนเนส
- ให้ทำการทดสอบการก่อโรคในห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์อย่างเหมาะสมภายใต้การควบคุมของบุคลากรที่ได้รับการอบรม
- ปฏิบัติตามแนวปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการมาตรฐานทุกครั้ง โดยรวมถึงการสวมเครื่องแต่งกายเพื่อป้องกันและอุปกรณ์ปกป้องดวงตาในขณะที่ปฏิบัติงานกับรีเอเจนต์และตัวอย่างที่มีการปนเปื้อน
- หลีกเลี่ยงการสัมผัสสิ่งที่อยู่ภายในอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อและหลอดรีเอเจนต์หลังจากการเพิ่มจำนวนเชื้อโรคแล้ว
- กำจัดตัวอย่างอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อตามมาตรฐานอุตสาหกรรมในปัจจุบัน

เพื่อลดความเสี่ยงอันเกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนข้ามขณะเตรียมชุดทดสอบ ให้ปฏิบัติตามนี้

- สวมถุงมือตลอดเวลา (เพื่อป้องกันผู้ใช้และป้องกันการก่อตัวของนิวเคลียส)

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ให้ปฏิบัติตามนี้

- ปฏิบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรมในปัจจุบันสำหรับการกำจัดขยะปนเปื้อน

⚠ ข้อควรระวัง

- ห้ามใช้อุณหภูมิสูงกว่าที่แนะนำไว้ในเครื่องทำความร้อน
- ห้ามใช้เวลาทำความร้อนเกินที่แนะนำ
- ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่เหมาะสมซึ่งได้รับการสอบเทียบแล้วเพื่อยืนยันอุณหภูมิของฮีทลอคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M™ (เช่น เทอร์โมมิเตอร์ชนิดจุ่มบางส่วนหรือเทอร์โมคัปเปิลเทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิทัล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) จะต้องวางเทอร์โมมิเตอร์ในบริเวณที่กำหนดไว้ของฮีทลอคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M

ข้อสังเกต

เพื่อลดความเสี่ยงอันเกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนข้ามขณะเตรียมชุดทดสอบ ให้ปฏิบัติตามนี้

- แนะนำให้ใช้ปลายปิเปตระดับชีววิทยาโมเลกุลที่มีตัวกั้นละอองอากาศ (กรอง) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- ใช้ปลายปิเปตใหม่สำหรับการถ่ายตัวอย่างแต่ละครั้ง
- ปฏิบัติตามแนวปฏิบัติทางห้องทดลองที่ดีเพื่อคัดลอกตัวอย่างจากอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อไปยังหลอดไลซิส เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนในการเปิด ผู้ใช้อาจเพิ่มขั้นตอนการวัดถ่ายโดยผ่านตัวกลาง ตัวอย่างเช่น ผู้ใช้อาจวัดถ่ายตัวอย่างอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อใส่ในหลอดที่ฆ่าเชื้อแล้ว
- ใช้สถานีงานทางชีววิทยาโมเลกุลที่มีหลอดไฟฟ้าเชื้อในกรณีที่ใช้ได้

เพื่อลดความเสี่ยงอันเกี่ยวข้องกับผลบวกที่เป็นเท็จ ให้ปฏิบัติตามนี้

- ห้ามเปิดหลอดทดลองภายหลังการเพิ่มจำนวนเชื้อโรค
- กำจัดหลอดทดลองที่ปนเปื้อนแล้วเสมอ โดยแช่ในน้ำยาฟอกขาวในครัวเรือนเข้มข้น 1-5% (ในน้ำที่มีปริมาตรเท่ากัน) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และให้อยู่ห่างจากบริเวณเตรียมการทดสอบ

ศึกษาเอกสารข้อมูลด้านความปลอดภัยของวัสดุสำหรับข้อมูลเพิ่มเติมและระเบียบข้อบังคับระดับท้องถิ่นสำหรับการกำจัดทิ้ง

หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการใช้งานหรือกรรมวิธีที่เฉพาะเจาะจงใดๆ โปรดเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราที่ www.3M.com/foodsafety หรือติดต่อตัวแทนจำหน่ายหรือผู้จัดจำหน่ายของบริษัท 3M ในท้องถิ่นของท่าน

เงื่อนไขการรับประกัน

เงื่อนไขการรับประกัน

3M ปฏิเสธการรับประกันทั้งหมดทั้งอย่างชัดแจ้งและโดยนัย รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการรับประกันใดๆ ถึงความสามารถในการจำหน่ายหรือความเหมาะสมสำหรับการใช้งานโดยเฉพาะ เว้นแต่จะได้อธิบายไว้อย่างชัดแจ้งในส่วนการรับประกันแบบจำกัดว่าด้วยบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชิ้น ถ้าเกิดข้อบกพร่องหรือความเสียหายกับสินค้าในกลุ่ม 3M Food Safety Product ทาง 3M หรือตัวแทนจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตจะทำการเปลี่ยนสินค้า หรือคืนเงิน แล้วแต่กรณี และถือเป็นการชดเชยเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ถ้าเกิดข้อบกพร่องหรือ ความเสียหายกับสินค้า ท่านต้องแจ้งกับทาง 3M ภายใน 60 วัน และทำการคืนสินค้าที่เสียหายให้ทาง 3M โปรดติดต่อแผนกบริการลูกค้า (1-800-328-1671 ในสหรัฐฯ) หรือตัวแทนของ 3M Food Safety เพื่อขออนุมัติการคืนสินค้า

ขอบเขตความรับผิดชอบของ 3M

3M จะไม่รับผิดชอบต่อการสูญเสียหรือความเสียหายใดๆ ทั้งโดยตรง โดยอ้อม ความเสียหายจำเพาะ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการผิดสัญญา หรือที่เป็นผลสืบเนื่อง รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ความรับผิดชอบของทาง 3M ในทางกฎหมายจะต้องไม่เกินราคาของผลิตภัณฑ์ที่เสียหายหรือบกพร่อง ไม่ว่ากรณีใดๆ ก็ตาม

ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ใช้จะต้องทำความเข้าใจในคู่มือการใช้งานผลิตภัณฑ์และข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม สามารถเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเรา www.3M.com/foodsafety หรือติดต่อตัวแทน 3M ในพื้นที่ของท่าน

เมื่อจะเลือกวิธีการทดสอบ สำคัญอย่างยิ่งที่จะต้องรู้จักปัจจัยภายนอกต่างๆ เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง เกณฑ์วิธีในการทดสอบ การจัดเตรียมตัวอย่าง การจัดการควบคุม และเทคนิคในห้องปฏิบัติการซึ่งอาจส่งผลต่อผลลัพธ์ที่ได้

ผู้ใช้นี้หน้าที่ได้รับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบ หรือผลิตภัณฑ์ใดก็ตามเพื่อประเมินจำนวนตัวอย่างที่เพียงพอ โดยใช้วิธีการที่เหมาะสม และการตรวจสอบความสามารถในการทำละลายจุลินทรีย์ เพื่อให้ผู้ใช้แน่ใจว่าวิธีการทดสอบที่ผู้ใช้เลือกนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้

นอกจากนี้ ผู้ใช้ยังมีหน้าที่รับผิดชอบในการตัดสินใจว่าวิธีการทดสอบและผลลัพธ์ที่ได้ใดๆ ก็ตามเป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและของผู้จัดส่งสินค้าหรือไม่

เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่นๆ ผลลัพธ์ที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ในกลุ่ม 3M Food Safety ใดก็ตามไม่ได้ก่อให้เกิดการรับประกันถึง คุณภาพของวิธีการหรือขั้นตอนที่ใช้ทดสอบ

3M ได้พัฒนาชุดน้ำยาควบคุมเพื่อทดสอบผลของส่วนประกอบในตัวอย่างแต่ละประเภท โดยวิธี 3M™ เพื่อช่วยให้ลูกค้าประเมินวิธีการสำหรับฟีดเมทริกซ์ที่หลากหลายได้ ใช้ชุดน้ำยาควบคุมเพื่อทดสอบผลของส่วนประกอบในตัวอย่างแต่ละประเภท (MC) เมื่อจำเป็น หากเมทริกซ์นั้นอาจกระทบต่อผลของชุดทดสอบเชื้อลิสต์ที่เรีย ไมโน ไชโตจีเนส ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ทดสอบตัวอย่างหลายๆ ตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของเมทริกซ์ เช่น ตัวอย่างที่ได้จากแหล่งกำเนิดที่ต่างกัน ตัวอย่างที่ได้ในระหว่างการพิสูจน์ใดๆ เมื่อนำวิธีการของ 3M มาใช้ หรือเมื่อทำการทดสอบเมทริกซ์ใหม่หรือที่ไม่รู้จัก หรือเมทริกซ์ที่ผ่านการเปลี่ยนแปลงทางวัตถุหรือการแปรรูป

เมทริกซ์อาจอธิบายได้ว่าเป็นชนิดของผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติตามธรรมชาติ เช่น องค์ประกอบและกระบวนการแปรรูป ความแตกต่างระหว่างเมทริกซ์อาจจะเป็นเพียงผลที่เกิดจากความแตกต่างในกระบวนการหรือรูปแบบที่นำเสนอ เช่น ดิบกับผ่านการฆ่าเชื้อ สดกับแห้ง ฯลฯ

การเก็บรักษาและการกำจัดทิ้ง

ชุดทดสอบเชื้อลิสต์ที่เรีย ไมโน ไชโตจีเนส ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ที่อุณหภูมิ 2-8°C ห้ามแช่แข็ง เก็บชุดอุปกรณ์ให้พ้นแสงในระหว่างการเก็บรักษา หลังจากเปิดชุดอุปกรณ์แล้วให้ตรวจสอบว่าถุงฟอยล์ไม่ชำรุดเสียหาย หากถุงฟอยล์ชำรุดเสียหาย ห้ามใช้ผลิตภัณฑ์นั้น หลังจากเปิดแล้วทุกครั้ง ควรจะเก็บรักษาหลอดรีเอเจนต์ที่ยังไม่ได้ใช้ไว้ในถุงที่ซีลปิดซ้ำได้โดยมีสารดูดความชื้นใส่อยู่ภายในเพื่อรักษาความคงตัวของรีเอเจนต์ที่ทำแห้งเยือกแข็งแล้วดังกล่าว เก็บรักษาถุงที่ซีลปิดซ้ำแล้วไว้ในอุณหภูมิ 2-8°C เป็นเวลาไม่เกิน 60 วัน

ห้ามใช้ชุดทดสอบเชื้อลิสต์ที่เรีย ไมโน ไชโตจีเนส ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ที่เลยวันหมดอายุแล้ว วันหมดอายุและหมายเลขล็อตจะแสดงไว้บนฉลากด้านนอกของกล่อง หลังใช้งาน อาหารเลี้ยงเชื้อ และหลอดชุดทดสอบเชื้อลิสต์ที่เรีย ไมโน ไชโตจีเนส ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M อาจมีจุลชีพก่อโรคตกค้างอยู่ เมื่อการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว ให้ปฏิบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรมในปัจจุบันสำหรับการกำจัดขยะปนเปื้อนทั้งศึกษาเอกสารข้อมูลด้านความปลอดภัยของวัสดุสำหรับข้อมูลเพิ่มเติมและระเบียบข้อบังคับระดับท้องถิ่นสำหรับการกำจัดทิ้ง

คำแนะนำสำหรับการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ หากไม่ปฏิบัติตามเช่นนั้น อาจจะทำให้ผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำได้

ลดการปนเปื้อนบนโต๊ะปฏิบัติงานและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (ปิเปตต์ เครื่องมือเปิด/ปิดฝา ฯลฯ) อย่างสม่ำเสมอด้วยน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ผสมกับน้ำที่มีปริมาตรเท่ากัน) หรือสารละลายกำจัดดีเอ็นเอ

ตัวอย่างอาหาร

ตารางที่ 2 แสดงค่า แนะนำ ในการเพิ่มจำนวนเชื้อในอาหารและตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการพิสูจน์ยืนยันระเบียบการสุ่มตัวอย่างหรืออัตราส่วนการเจือจางแบบอื่นเพื่อให้ความเชื่อมั่นว่าวิธีการทดสอบนี้สอดคล้องกับเกณฑ์ของผู้ใช้งานเอง

เพิ่มจำนวนเชื้อ

1. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อเดมิ-เฟรเซอร์บรอต (รวมถึงเฟอร์ริกแอมโมเนียมซีเตรต) มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ
2. ผสมอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อกับตัวอย่างเข้าด้วยกันตามตารางที่ 2 สำหรับตัวอย่างเนื้อสัตว์และตัวอย่างที่ลักษณะเป็นละอองอนุภาคสูงทุกชนิด แนะนำให้ใช้ถุงกรอง
3. ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องปั่น ใช้เทคนิค stomaching หรือการผสมด้วยมือเป็นเวลา 2 ± 0.2 นาที บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ตามตารางที่ 2
4. สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ทำจากนมดิบ ให้เติมอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อหลัก 0.1 มล. ลงในเฟรเซอร์บรอต 10 มล. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

ตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม

อุปกรณ์เก็บตัวอย่างอาจจะเปื้อนน้ำที่ชุ่มด้วยสารละลายสำหรับทำให้เป็นกลางเพื่อยับยั้งฤทธิ์อันเป็นผลของสารฆ่าเชื้อ บริษัท 3M แนะนำให้ใช้ฟองน้ำชนิดเซลลูโลสที่ไร้สารฆ่าเชื้อโรค สารละลายสำหรับทำให้เป็นกลางอาจจะเปื้อนอาหารเหลวสำหรับทำให้เป็นกลางชนิด Dey-Engley (D/E) หรืออาหารเหลวเลททินบรอร์ก็ได้ แนะนำให้ฆ่าเชื้อบริเวณดังกล่าวหลังจากกลุ่มตัวอย่างแล้ว

คำเตือน: หากคุณเลือกที่จะใช้ปั๊มเฟอร์สำหรับทำให้เป็นกลาง (NB) ซึ่งประกอบด้วยสารเชิงซ้อนของเอริลซัลโฟเนตเป็นสารละลายในการทำให้ฟองน้ำชุ่มชื้น กำหนดให้ต้องดำเนินการทำเจือจางตัวอย่างทางสภาพแวดล้อมที่เพิ่มจำนวนเชื้อแล้วในอัตราส่วน 1:2 (ตัวอย่าง 1 ส่วนในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 ส่วน) ก่อนการทดสอบเพื่อที่จะลดความเสี่ยงอันเกี่ยวข้องกับผลลบที่เป็นเท็จซึ่งนำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนออกสู่ภายนอกได้

พื้นที่สัมผัสตัวอย่างเพื่อยืนยันการมีหรือไม่มีเชื้อก่อโรคนบนพื้นผิวควรมีขนาดอย่างน้อย 100 ตร.ซม.² (10 ซม. x 10 ซม. หรือ 4 x 4) เมื่อสัมผัสตัวอย่างด้วยฟองน้ำ ให้ทำครอบคลุมทั่วพื้นที่ในสองทิศทาง (จากซ้ายไปขวา ตามด้วยจากบนลงล่าง) หรือให้เก็บตัวอย่างทางสภาพแวดล้อมโดยใช้วิธีการสัมผัสตัวอย่างในปัจจุบันของท่าน หรือทำตามระเบียบการของ FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ หรือคำแนะนำของ ISO 18593⁽⁶⁾

1. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อเดมิ-เฟรเซอร์บรอต (รวมถึงเฟอร์ริกแอมโมเนียมซีเตรต) มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ
2. ใช้เทคนิคปลอดเชื้อผสมอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อและตัวอย่างเข้าด้วยกัน ตามตารางที่ 2
3. ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องปั่น ใช้เทคนิค stomaching หรือการผสมด้วยมือเป็นเวลา 2 ± 0.2 นาที บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 24-30 ชั่วโมง

ตาราง 2: เกณฑ์วิธีในการเพิ่มจำนวนเชื้อโดยใช้สารเสริมอาหารเลี้ยงเชื้อเดมิ-เฟรเซอร์บรอต

เมทริกซ์ตัวอย่าง	ขนาดตัวอย่าง	ปริมาตรของอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ (มล.)	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (°C)	เวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชม.)
เนื้อวัว เนื้อสัตว์ปีก อาหารทะเลและปลาที่ผ่านความร้อน ปรงสุก หมักเกลือ ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากนมที่ผ่านความร้อน/กระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ ผลิตภัณฑ์ผลการเกษตรและพืชผัก อาหารที่มีส่วนประกอบหลายอย่าง	25 ก.	225	37	24-30
ตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม	ฟองน้ำ 1 ชิ้น	100 หรือ 225	37	24-30
	ชุดป้ายเชื้อ 1 ชุด	10	37	24-30
เนื้อดิบ เนื้อสัตว์ปีก อาหารทะเล ปลา	25 ก.	475	37	28-32

เมทริกซ์ตัวอย่าง	การเพิ่มจำนวนเชื้อปฐมภูมิ (เคมี-เฟรเซอร์บรอต)				การเพิ่มจำนวนเชื้อทุติยภูมิ (เฟรเซอร์บรอต)			ปริมาตร การวิเคราะห์ตัวอย่าง ^(a)
	ขนาดตัวอย่าง	ปริมาตรของอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ (มล.)	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (°C)	เวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชม.)	ขนาดตัวอย่าง	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (°C)	เวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชม.)	
ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากนมดิบ	25 ก.	225	37	20-24	ถ่ายตัวอย่าง 0.1 มล. ลงในเฟรเซอร์บรอต 10 มล.	37	20-24	10 µL

(a) ปริมาตรของตัวอย่างที่ถ่ายลงในหลอดสารละลายไลซีส โปรดดูขั้นตอน 4.6 ในหัวข้อไลซีส

การเตรียมภาตใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™

1. ใช้ผ้าชุบน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ในน้ำที่มีปริมาตรเท่ากัน) เช็ดภาตใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™
2. ใช้น้ำล้างภาตใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™
3. ใช้กระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งเช็ดภาตใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™ ให้แห้ง
4. ตรวจสอบให้แน่ใจว่าภาตใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™ แห้งสนิทก่อนใช้งาน

การเตรียมซิลบล็อดสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M™

วางซิลบล็อดสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™ ลงบนโต๊ะปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการโดยตรง (ไม่ใช่ภาตวางซิลบล็อดสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M™) ใช้ซิลบล็อดที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (20-25°C)

การเตรียมฮีทบล็อดสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M™

วางฮีทบล็อดสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M™ ในเครื่องทำความร้อนทรายบล็อด เปิดเครื่องทำความร้อนทรายบล็อดและตั้งอุณหภูมิเพื่อให้ฮีทบล็อดสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M™ มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึง $100 \pm 1^\circ\text{C}$

หมายเหตุ: ให้ฮีทบล็อดสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M™ มีอุณหภูมิตามที่กำหนดโดยทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับเครื่องทำความร้อน ไซเทอร์โมมิเตอร์ที่เหมาะสมซึ่งได้รับการสอบเทียบแล้ว (เช่น เทอร์โมมิเตอร์ชนิดจุ่มบางส่วนหรือเทอร์โมคัปเปิล เทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิตอล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) วางลงในตำแหน่งที่กำหนดเพื่อยืนยันว่าอุณหภูมิของฮีทบล็อดสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M™ มีอุณหภูมิ $100 \pm 1^\circ\text{C}$

การเตรียมเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรครดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™

1. เปิดใช้ซอฟต์แวร์ทดสอบเชื้อก่อโรครดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™ แล้วเข้าสู่ระบบ

- เปิดเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M
- สร้างหรือแก้ไขชุดการทำงานที่มีข้อมูลสำหรับแต่ละตัวอย่าง อ้างอิงคู่มือการใช้งานระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M สำหรับรายละเอียดเพิ่มเติม

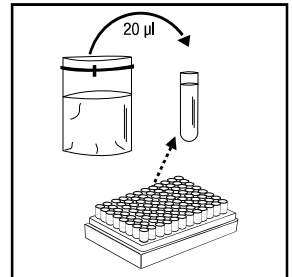
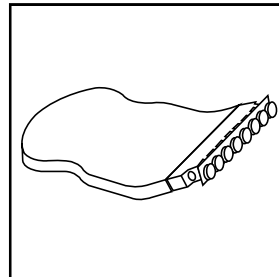
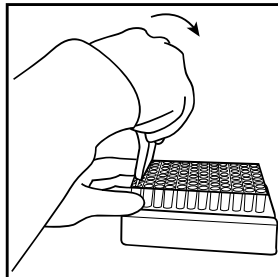
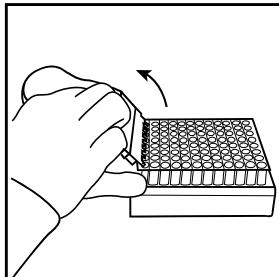
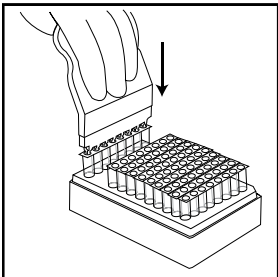
หมายเหตุ: ต้องรอให้เครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M มีอุณหภูมิถึง 60°C และรักษาระดับอุณหภูมินี้ไว้ ก่อนที่จะใส่ ถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเขาเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ที่มีหลอดทำปฏิกิริยาเขาไป ขั้นตอนของการทำความร้อนนี้ใช้เวลา ประมาณ 20 นาทีและบังคับด้วยไฟสีส้มบนแถบบอกสถานะของเครื่อง เมื่อเครื่องมือพร้อมที่จะเริ่มดำเนินการทำงาน แถบบอกสถานะดังกล่าวจะ เปลี่ยนเป็นสีเขียว

การไลซิส

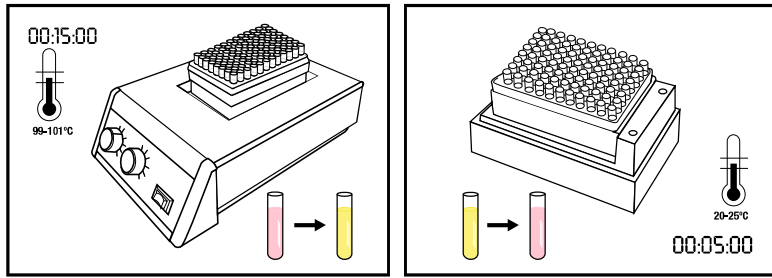
- รอให้หลอดสารละลายไลซิส (LS) อุ่นขึ้นโดยนำที่วางหลอดไปไว้ในอุณหภูมิห้อง (20-25 °C) ซ้ำคืน (16-18 ชั่วโมง) ทางเลือกอื่นๆ นอกเหนือจากการวางหลอด LS ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก็คือการวางหลอด LS ไว้บนโต๊ะปฏิบัติการของห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 2 ชั่วโมง การนำหลอด LS ไปบ่มในที่ที่อุณหภูมิ 37 ± 1°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือวางหลอดเครื่องทำความร้อนบล็อกคู่แบบแห้งเป็นเวลา 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 100°C
- พลิกหลอดที่เปิดฝาไปมาเพื่อผสมให้เข้ากัน เป็นเวลาสูงสุด 4 ชั่วโมงก่อนใช้
- นำอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อออกจากตู้บ่มเชื้อ
- ต้องใช้หลอด LS หนึ่งหลอดสำหรับตัวอย่างแต่ละตัวอย่างและตัวอย่างควบคุมผลลบ (NC) (อาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารอาหารชนิดพิเศษที่ปลอดเชื้อ)
 - แถวของหลอด LS สามารถตัดออกเพื่อให้มีจำนวนหลอด LS ตามที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอด LS แต่ละหลอดหรือแถวที่มี 8 หลอด ตามความจำเป็น วางหลอด LS ในที่วางหลอดที่วางอยู่
 - เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม ให้เปิดฝาของหลอด LS ทั้งแถวในครั้งเดียว และใช้ปลายปิเปตต์อันใหม่สำหรับวัดถ่ายสารแต่ละขั้นตอน
 - ถ่ายตัวอย่างที่เพิ่มจำนวนเชื้อแล้วลงในหลอด LS ดังที่อธิบายไว้ข้างล่างนี้

วัดถ่ายตัวอย่างที่เพิ่มจำนวนเชื้อแล้วแต่ละตัวอย่างลงในหลอด LS แต่ละหลอด **เป็นอันดับแรก** ถ่าย NC เป็นอันดับสุดท้าย

- ใช้เครื่องมือเปิด/ปิดฝาหลอดไลซิสโดยวิธี 3M™ ในการเปิดฝาหลอด LS ที่ละแถว
- ทิ้งฝาหลอด LS – หากจะเก็บไลเซตเอาไว้เพื่อทดสอบซ้ำ ให้วางฝาในภาชนะที่สะอาดเพื่อนำกลับมาใช้ หลักการไลซิสสำหรับการดำเนินการจัดการไลเซตที่เก็บไว้ โปรดดูภาคผนวก A
- ถ่ายตัวอย่าง 20 µL ลงในหลอด LS ยกเว้นว่าจะระบุไว้เป็นอย่างอื่นในตารางเกณฑ์วิธี
- ทำซ้ำขั้นตอน 4.2 เพื่อเพิ่มปริมาณตัวอย่างแต่ละชนิดลงในหลอด LS เดิมที่อยู่ในแถวนั้น



- ทำซ้ำขั้นตอนที่ 4.1 ถึง 4.6 ตามความจำเป็นสำหรับจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ
- เมื่อถ่ายตัวอย่างทั้งหมดเสร็จแล้ว ให้ถ่าย NC 20 µL (อาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารอาหารชนิดพิเศษที่ปลอดเชื้อ เช่น เดมิ-เฟรเซอร์บรอต) ลงในหลอด LS ห้ามใช้น้ำเป็น NC
- ตรวจสอบว่าอุณหภูมิของฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M อยู่ที่ 100 ± 1°C
- วางที่ใส่หลอด LS ลงในฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M และอุ่นร้อนเป็นเวลา 15 ± 1 นาที ระหว่างการอุ่นร้อน สารละลาย LS จะเปลี่ยนจากสีชมพู (เย็น) เป็นเหลือง (ร้อน)
ตัวอย่างซึ่งไม่ได้รับความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการไลซิสชุดทดสอบอาจจะถือว่าเป็นสารที่อาจมีอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M
- นำที่ใส่หลอด LS ออกจากฮีทบล็อกและปล่อยให้เย็นลงในซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M อย่างน้อย 5 นาที และไม่เกิน 10 นาที ซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ที่ใช้ในอุณหภูมิห้องโดยไม่มีถาดวางซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลควรวางลงบนโต๊ะปฏิบัติการของห้องปฏิบัติการโดยตรง เมื่อเย็นลง สารละลายไลซิสจะเปลี่ยนกลับเป็นสีชมพู
- นำที่ใส่หลอด LS ออกจากซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M

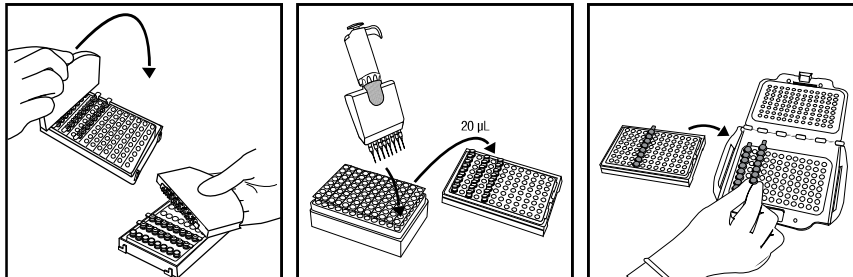


การเพิ่มขยาย

1. ต้องเปิดหลอดรีเอเจนต์สำหรับแต่ละตัวอย่างและ NC
 - 1.1 แกวของหลอดรีเอเจนต์สามารถตัดออกเพื่อให้มีจำนวนหลอดตามที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอดรีเอเจนต์แต่ละหลอดหรือแก้วที่มี 8 หลอด ตามความจำเป็น
 - 1.2 วางหลอดรีเอเจนต์ในที่วางที่ว่างอยู่
 - 1.3 หลีกเลี่ยงการรบกวนผลึกรีเอเจนต์ที่ก้นหลอด
2. เลือกหลอดรีเอเจนต์คอนโทรล (RC) 1 หลอดแล้ววางลงในที่วาง
3. เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม เปิดฝาแถบหลอดรีเอเจนต์ที่หลอด และใช้ปลายหลอดถ่ายสารหลอดใหม่สำหรับแต่ละขั้นตอนการถ่ายสาร
4. ถ่ายไลเซตลงในหลอดรีเอเจนต์และหลอด RC ดังที่อธิบายไว้ข้างล่างนี้

ถ่ายไลเซตของแต่ละตัวอย่างลงในหลอดรีเอเจนต์แต่ละหลอด **เป็นอันดับแรก** ตามด้วย NC ใส่ของเหลวในหลอด RC เป็นลำดับสุดท้าย

5. ใช้เครื่องมือเปิด/ปิดฝาหลอดทดสอบโดยวิธี 3M™ ในการเปิดฝาหลอดรีเอเจนต์ที่หลอด ทั้งฝาปิด
 - 5.1 ถ่ายตัวอย่างไลเซต 20 μ L ในหลอด LS ลงในหลอดรีเอเจนต์ที่ตรงกัน เอียงหลอดเพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนผลึกที่ก้นหลอด ผสมโดยใช้ปิเปตต์ดูดขึ้นและลงเบาๆ 5 ครั้ง
 - 5.2 ทำซ้ำขั้นตอน 5.1 จนกว่าตัวอย่างไลเซตแต่ละตัวจะถูกเติมลงในหลอดรีเอเจนต์ที่ตรงกันในแถบ
 - 5.3 ปิดหลอดรีเอเจนต์ด้วยฝาปิดพิเศษที่ให้มาและใช้ด้านมนของเครื่องมือเปิด/ปิดฝาหลอดทดสอบรีเอเจนต์ 3M กดเข้าไปเข้ามาเพื่อให้แน่ใจว่าฝาปิดสนิท
 - 5.4 ทำซ้ำขั้นตอน 5.1 ตามความจำเป็น เพื่อให้ได้จำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ
 - 5.5 เมื่อถ่ายตัวอย่างไลเซตทั้งหมดแล้ว ให้ทำซ้ำขั้นตอนที่ 4.1 เพื่อถ่าย NC ไลเซต 20 μ L ลงในหลอดรีเอเจนต์
 - 5.6 ถ่าย **NC ไลเซตที่มีปริมาตร 20 μ L ลงในหลอด RC** เอียงหลอดเพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนผลึกที่ก้นหลอด ผสมโดยใช้ปิเปตต์ดูดขึ้นและลงเบาๆ 5 ครั้ง
6. ใส่หลอดที่ปิดฝาแล้วลงในถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ที่สะอาดและขจัดคาร์บอนแล้ว ปิดและล็อกฝาถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M



7. พิจารณาทบทวนและยืนยันการดำเนินการที่กำหนดค่าไว้ในซอฟต์แวร์ทดสอบเชื้อก่อโรครดับโมเลกุลโดยวิธี 3M
8. คลิกปุ่ม Start ในซอฟต์แวร์ แล้วเลือกเครื่องมือที่จะใช้ ฝาปิดของอุปกรณ์ที่เลือกจะเปิดโดยอัตโนมัติ
9. ใส่ถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรครดับโมเลกุลโดยวิธี 3M แล้วปิดฝาเพื่อเริ่มต้นการทดสอบ ระบบจะให้ผลการทดสอบภายในเวลา 75 นาที แม้ว่าผลที่เป็นบวกอาจจะตรวจจับได้เร็วกว่านั้นก็ตาม
10. หลังจากการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว ให้นำถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ออกจากเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรครดับโมเลกุลโดยวิธี 3M แล้วกำจัดหลอดเหล่านั้นทิ้งโดยแช่ในน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ในน้ำที่มีปริมาตรเท่ากัน) นาน 1 ชั่วโมง และปฏิบัติเช่นนี้ห่างจากพื้นที่จัดเตรียมชุดทดสอบ

ข้อสังเกต: เพื่อลดความเสี่ยงในการได้ผลบวกที่เป็นเท็จอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนข้าม จึงห้ามเปิดหลอดรีเอเจนต์ซึ่งบรรจุ DNA ที่เพิ่มขยายแล้ว ซึ่งรวมถึงรีเอเจนต์คอนโทรล รีเอเจนต์และชุดน้ำยาควบคุม กำจัดหลอดรีเอเจนต์ที่ซิลแล้วทิ้งโดยแช่ในน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ในสัดส่วนที่เท่ากับปริมาตรน้ำ) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และให้อยู่นอกจากพื้นที่จัดเตรียมชุดทดสอบทุกครั้ง

ผลการทดสอบและการแปลความหมาย

อัลกอริธึมจะแปลความหมายเส้นโค้งของแสงที่ส่งออกมาอันเป็นผลมาจากการตรวจพบการเพิ่มขยายของกรดนิวคลีอิก ซอฟต์แวร์จะวิเคราะห์ผลการทดสอบนี้โดยอัตโนมัติและจะมีการเข้ารหัสสีตามผลที่ได้ดังกล่าว ผลการทดสอบที่ให้ค่าเป็นบวกหรือลบจะพิจารณาตัดสินโดยการวิเคราะห์พารามิเตอร์ของเส้นโค้งที่มีลักษณะเฉพาะตัวจำนวนหนึ่ง ผลที่สันนิษฐานว่าเป็นบวกจะมีการรายงานในทันที ขณะที่ผลที่เป็นลบจะแสดงผลภายหลังจากการดำเนินการดังกล่าวเสร็จสมบูรณ์แล้ว

ผลสันนิษฐานของตัวอย่างค่าบวกควรจะได้รับการยืนยันตามขั้นตอนที่ดำเนินการตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการหรือโดยการยืนยันตามวิธีการที่ใช้อ้างอิงอย่างเหมาะสม^(1, 2, 3) โดยเริ่มด้วยการวัดค่าจากสูตรอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อปฏิมูมิชนิดเหลวไปยังอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อทุติยภูมิ (หากทำได้) จากนั้นจึงทำการเคลื่อนและยืนยันการแยกตัวโดยใช้วิธีการทางชีวเคมีและวิทยาเซลล์ที่เหมาะสม

หมายเหตุ: แม้แต่ตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบก็อาจไม่ให้ค่าที่อ่านได้เป็นศูนย์เนื่องจากรีเอเจนต์ในการเพิ่มขยายสำหรับชุดทดสอบเชื้อลิสทีเรีย ไมโนไซโตจีน เอสระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M จะมีหน่วยแสงสัมพัทธ์ (RLU) "ค่าพื้นหลัง"

ในกรณีที่พบได้ไม่บ่อยนักซึ่งแสงที่ส่งออกมาไม่มีลักษณะผิดปกติ อัลกอริธึมดังกล่าวจะตัดสินจากข้อมูลส่งออกมาเป็น ตรวจสอบ บริษัท 3M แนะนำให้ผู้ใช้ทำการทดสอบซ้ำสำหรับตัวอย่างที่ให้ผลเป็นตรวจสอบ หากผลการทดสอบยังคงเป็นตรวจสอบ ให้ไปที่การทดสอบเพื่อยืนยันโดยใช้วิธีการที่ต้องการหรือตามที่ระบุโดยหน่วยงานกฎระเบียบในประเทศ

หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการใช้งานหรือกรรมวิธีที่เฉพาะเจาะจงใดๆ โปรดเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราที่ www.3M.com/foodsafety หรือติดต่อตัวแทนจำหน่ายหรือผู้จัดจำหน่ายของบริษัท 3M ในท้องถิ่นของท่าน

เอกสารอ้างอิง:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

ภาคผนวก A การหยุดการทดสอบชั่วคราว: การเก็บรักษาและการทดสอบไลเซตที่ผ่านการบำบัดด้วยความร้อนซ้ำ

1. หากต้องการเก็บไลเซตที่ผ่านการบำบัดด้วยความร้อน ให้ปิดฝาหลอดไลเซตด้วยฝาที่สะอาด (ดู "ไลเซต" 4.5)
2. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ถึง 8°C ไม่เกิน 72 ชั่วโมง
3. เตรียมตัวอย่างที่เก็บสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อโดยพลิกหลอดไปมา 2-3 ครั้งเพื่อผสมตัวอย่างให้เข้ากัน
4. ปิดฝาหลอด
5. ใส่หลอดไลเซตที่ผสมตัวอย่างเข้ากันแล้วลงในฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M และให้ความร้อนที่ $100 \pm 1^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 5 ± 1 นาที
6. นำที่ใส่หลอด LS ออกจากฮีทบล็อกและปล่อยให้เย็นลงในซิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M อย่างน้อย 5 นาทีและไม่เกิน 10 นาที
7. ดำเนินการทดสอบต่อไปในส่วน 'การเพิ่มจำนวนเชื้อ' ตามรายละเอียดด้านล่าง

คำอธิบายสัญลักษณ์บนฉลากผลิตภัณฑ์



ข้อควรระวังหรือคำเตือน โปรดดูคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์



ศึกษาคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์



ล็อตในกล่องเป็นหมายเลขล็อตของผลิตภัณฑ์



นาฬิกาทรายตามด้วยเดือนและปีซึ่งแสดงวันหมดอายุ



ข้อจำกัดของอุณหภูมิในการเก็บรักษา

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

제품 설명서

MDA2LM096

분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용

제품 설명 및 용도

3M™ 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용은 증균된 식품 및 식품 가공 환경 시료에서 리스테리아 균을 신속하고 특정적으로 검출하기 위해 3M™ 분자 검출 시스템과 함께 사용할 수 있도록 제작되었습니다.

3M 분자 검출 키트는 고리 매개 등은 증폭 방식으로 증폭 감지를 위한 생체발광이 결합되어, 높은 특정성과 민감도를 가진 핵산 염기 서열을 빠르게 증폭시킵니다. 추정 양성 결과는 실시간으로 보고되는 반면, 음성 결과는 시험이 완료된 후 표시됩니다. 추정 양성 결과는 원하는 방법을 사용하거나 지역 규정^(1,2,3)에 지정된 대로 확인되어야 합니다.

3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용은 실험 기법에 대해 적절한 교육을 받은 전문가들이 실험실 환경에서 사용하도록 고안되었습니다. 3M은 식품이나 음료가 아닌 다른 산업에서의 이 제품 사용을 문서화하지 않았습니다. 예를 들어 3M은 물, 약품, 화장품, 임상 또는 수의학 시료 시험에 대해 이 제품을 문서화하지 않았습니다. 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용은 가능한 모든 테스트 실험 계획서 또는 가능한 모든 균주에 대한 평가를 수행하지 않았습니다.

모든 시험 방법처럼, 증균 배지의 원료가 결과에 영향을 미칠 수 있습니다. 3M은 구연산 철 암모늄을 함유하는 Demi-Fraser Broth로 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용을 평가했습니다. 이 배지의 일반적인 제제는 아래와 같습니다.

Demi-Fraser Broth Base 일반 제조법(g/L)

염화나트륨	20g
인산나트륨, 2염기, 무수*	9.6g
쇠고기 추출물	5.0g
카제인 체장 소화액	5.0g
동물 조직 펩신 소화액	5.0g
이스트 추출물	5.0g
염화리튬	3.0g
인산칼륨(1염기)	1.35g
에스쿨린	1.0g
아크리프라빈 염산	0.0125g
날리덱산	0.01g
* 대체물: 인산나트륨, 2염기, 탈수물	12.0g

Fraser Broth 보충

(10mL 바이알 당 성분, 기본 배지 1리터에 바이알 하나가 추가됩니다.)

구연산 철 암모늄	0.5g/10mL
-----------	-----------

25°C에서 최종 pH는 7.2±0.2입니다.

3M™ 분자 검출기는 시료에 있는 유기체를 파괴하기 위한 용해 평가 단계 중에 열처리를 거친 시료와 함께 사용하기 위한 것입니다. 용해 평가 단계 동안 적절하게 열처리가 되지 않은 샘플은 잠재적인 생물학적 위험으로 간주되어 3M 분자 검출기에 절대로 삽입하지 마십시오.

3M Food Safety는 설계 및 제조에 관한 ISO(International Organization for Standardization) 9001 인증을 받았습니다.

3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용 시험 키트에는 표 1에 설명된 바와 같이 96개 시험이 포함되어 있습니다.

표 1. 키트 구성요소

항목	ID	수량	내용물	비고
LS(Lysis Solution) 튜브	투명한 튜브의 분홍색 용액	96개(8개들이 튜브 12개 스트립)	튜브 당 580µL의 LS	랙형 및 사용 준비
리스테리아 모노사이토제네스 Reagent 튜브	노란색 튜브	96개(8개들이 튜브 12개 스트립)	동결 건조된 특정 증폭 및 탐지 혼합	사용 준비
예비 캡	노란색 마개	96개(8개들이 캡 12개 스트립)		사용 준비
Reagent 컨트롤(RC)	투명 플립톱 튜브	16개(8개들이 개별 튜브 2개 파우치)	동결 건조된 제어 DNA, 증폭과 탐지 혼합	사용 준비
빠른 시작 안내서		1		

키트에 제공되지 않은 음성 대조군은 멸균 증균 배지(예: Demi-Fraser Broth)입니다. 물을 음성 대조군으로 사용하지 마십시오.

안전

사용자는 3M 분자 검출 시스템 및 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용과 관련된 지침의 안전 정보 일체를 숙지하고 따라야 합니다. 나중에 참조할 수 있도록 안전 지침을 보관하십시오.

△ **경고:** 피하지 못할 경우 사망이나 심각한 부상 및/또는 재산 상의 손해를 초래할 수 있는 위험 상황을 의미합니다.

△ **주의:** 피하지 못할 경우 중경상 및/또는 재산 상의 손해를 초래할 수 있는 위험 상황을 의미합니다.

알림: 피하지 못하면 재산상의 피해를 초래할 수 있는 잠재적으로 위험한 상황을 나타냅니다.

⚠ 경고

인간 또는 동물의 상태를 진단하는 데 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용을 사용해서는 안 됩니다.

3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용 기법은 임신부와 면역력이 약화된 사람에게 노출될 경우 사산아 출산 및 사망에 이를 수 있는 수준의 리스테리아 모노사이토제네스를 발생시킬 수 있습니다.

담당자는 최신의 적절한 시험 기법에 대해 사용자에게 교육을 실시해야 합니다. 우수 실험실 관리기준, ISO 17025⁽⁴⁾ 또는 ISO 7218⁽⁵⁾.

오염된 제품의 출시를 초래하는 위음성 결과와 관련된 위험을 줄이려면:

- 계획서를 준수하고 제품 사용법에 명시된 대로 정확하게 시험을 수행하십시오.
- 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용은 포장 및 제품 지침에 명시된 바에 따라 보관합니다.
- 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용은 유효 기간까지만 사용해야 합니다.
- 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용은 내부에서 또는 제3자가 확인한 식품 및 환경 시료와 함께 사용합니다.
- 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용은 내부에서 또는 제3자가 확인한 시험면, 살균제, 실험 계획서 및 균주와 함께 사용해야 합니다.
- 아릴 술폰산염 복합물을 사용한 중화 완충액을 포함하는 환경 시약의 경우 시험 전에 1:2 비율로 희석하십시오 (시료 1부분을 멸균 증균 배지 1부분에 넣음). 중화 완충액을 포함하는 3M™ 시료 처리 제품은 다음과 같습니다. BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB 및 HS119510NB.

화학물질 및 생물학적 유해 물질 노출 관련 위험을 줄이려면:

- 여성 실험실 직원에게 리스테리아 모노사이토제네스 노출을 통해 모체가 감염되면 발육 중인 태아가 위험할 수 있음을 통보해야 합니다.
- 교육을 받은 사람의 통제하에 적절하게 준비된 실험실에서 병원체 시험을 수행하십시오.
- 시약 및 오염된 시료를 다룰 때는 적절한 보호복과 보안경 착용을 비롯하여 항상 표준 실험실 안전 방침을 준수하십시오.
- 증폭 후 증균 배지 및 시약 튜브의 내용물과 접촉하지 않도록 하십시오.
- 현재 업계 표준에 따라 증균된 시료를 폐기하십시오.

시검을 준비하는 동안 교차 오염과 관련된 위험을 줄이려면:

- (사용자를 보호하고 뉴클레아제의 침투를 막기 위해) 항상 장갑을 착용해야 합니다.

환경 오염 관련 위험을 줄이려면:

- 오염 폐기물 처리는 현재 업계 표준을 따르십시오.

△ 주의

- 권장 가열 온도를 초과하지 마십시오.
- 권장 가열 시간을 초과하지 마십시오.
- 적절하고 눈금이 있는 온도계를 사용하여 3M™ 분자 검출 히팅 블록 인서트 온도를 확인하십시오(예: 부분 침지 온도계 또는 디지털 열전대 온도계, 전체 침지 온도계는 안됨), 온도계는 반드시 3M 분자 검출 히팅 블록 인서트에서 지정된 장소에 두어야 합니다.

참고

시검을 준비하는 동안 교차 오염과 관련된 위험을 줄이려면:

- 멸균된 분무식 장벽(필터 사용), 분자 생물학용 피펫 팁을 권장합니다.
- 각 시료 이동 시 새 피펫 팁을 사용하십시오.
- 우수 실험실 관리기준을 적용하여 샘플을 증균에서 용해 튜브로 옮기십시오. 피펫 오염을 방지하려면 중간 분주 단계를 추가해야 할 수도 있습니다. 예를 들어 사용자는 증균된 각 샘플을 멸균 튜브로 옮길 수 있습니다.
- 해당되는 경우 살균 램프를 포함하는 분자생물학 워크스테이션을 사용하십시오.

위양성 결과가 발생할 위험을 줄이려면:

- 증폭 후에는 절대 튜브를 열지 마십시오.
- 오염된 튜브는 항상 1-5% 농도(v:v 물)의 가정용 표백제에 1시간 동안 담가두었다가 키트 준비 구역과 멀리 떨어진 위치에 폐기합니다.

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

구체적인 용도나 절차에 대하여 궁금한 점이 있으면 당사 웹 사이트(www.3M.com/foodsafety)를 방문하거나 현지 3M 대리점 또는 판매업체로 문의하십시오.

보증의 한계 / 제한적 구제

개별 제품 포장의 제한적 보증 부분에 명시된 경우를 제외하고, 3M은 상품성 또는 특정 용도 적합성에 대한 보증을 포함한 어떤 명시적이거나 암묵적인 보증도 거부합니다. 3M Food Safety 제품에 결함이 있을 경우, 3M이나 그의 공식 판매업체는 자체 판단에 따라 제품을 교체하거나 구매 금액을 환불해 드립니다. 다음은 귀하의 유일한 구제 방법입니다. 제품에서 의심되는 결함이 발견되면 발견일로부터 60일 이내에 3M으로 즉시 통지하고, 제품을 3M으로 반품해야 합니다. 고객센터부(한국: 080-033-4114)나 3M Food Safety의 공식 대리점으로 전화하여 반품 인증 (Returned Goods Authorization)을 받으십시오.

3M 책임의 제한

3M은 수익의 상실을 포함하여 어떤 직접적인, 간접적인, 특별한, 부수적인, 결과적인 손해나 손실에 대해서도 책임지지 않습니다. 법 이론에 따른 3M의 책임은 어떤 경우에도 결함이 있다고 주장된 제품의 구매 대금을 초과하지 않습니다.

사용자의 책임

사용자는 제품 사용법과 정보를 숙지할 책임이 있습니다. 보다 자세한 정보는 당사의 웹사이트 www.3M.com/foodsafety를 참고하거나 현지 3M이나 영업 대리점으로 문의하십시오.

시험 방법을 선택할 때, 시료 추출 방법, 시험 프로토콜, 시료 준비, 취급, 실험 기법과 같은 외적 요인들이 결과에 영향을 미칠 수 있음을 인식하는 것이 중요합니다.

시험 방법이나 제품을 선택할 때 선택된 시험 방법이 사용자의 기준을 충족할 수 있도록 적합한 매트릭스와 미생물 제거 시험을 사용하여 충분한 수의 시료를 평가하는 것은 사용자의 책임입니다.

또한 사용자는 모든 시험 방법 및 결과가 고객 및 공급자의 요구사항을 충족하는지 판단할 책임이 있습니다.

다른 시험 방법과 마찬가지로 3M Food Safety 제품을 사용하여 얻은 결과가 시험된 매트릭스나 프로세스의 품질을 보장하는 것은 아닙니다.

3M에서는 다양한 푸드 매트릭스 방법 평가에 도움을 드리기 위해 3M™ 분자 검출 매트릭스 컨트롤 키트를 개발했습니다. 필요한 경우, 매트릭스 컨트롤(MC)을 사용하여 해당 매트릭스가 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용 결과에 영향을 미칠 수 있는지 여부를 확인할 수 있습니다. 매트릭스를 대표하는 여러 시료를 시험하십시오(예: 3M 방법 적용 시 또는 원료 또는 프로세스에 변화가 있었던 신규/미상의 매트릭스 시험 시 유효성 검사를 하는 중에 다양한 원천에서 얻은 시료).

매트릭스는 구성이나 프로세스와 같은 내재적 성질이 있는 제품의 종류로 정의할 수 있습니다. 매트릭스 간의 차이점은 매트릭스의 처리 방법 또는 모양(예: 비살균 vs. 저온살균, 생제품 vs. 건조제품 등)이 미치는 영향처럼 간단합니다.

보관 및 폐기

3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용은 2-8°C에서 보관합니다. 동결시키지 마십시오. 보관 중 키트가 빛을 받지 않도록 하십시오. 키트를 열어 보고 호일 파우치가 손상되지 않았는지 확인합니다. 파우치가 손상된 경우 사용하지 마십시오. 개봉 후, 사용하지 않은 시약 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 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용은 사용하지 마십시오. 유통기한과 품목 번호는 상자의 외부 라벨에 기입되어 있습니다. 사용하고 난 증균 배지와 3M 분자 검출 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용 튜브에는 잠재적으로 병원성 물질이 포함되어 있을 수 있습니다. 시험이 완료되면 현재 업계 표준에 따라 오염 폐기물을 폐기하십시오. 폐기에 대한 추가 정보 및 지역 규정은 안전보건자료(SDS)를 참조하십시오.

사용 지침

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

주기적으로 1-5%(v: v 물) 가정용 표백 용액 또는 DNA 제거 용액으로 실험실 벤치와 장비(피펫, 캡/디캡 도구 등)의 오염을 제거하십시오.

시료 증균

표 2는 식품 및 환경 시료의 증균 방법에 대한 지침을 제공합니다. 다른 시료 추출 계획서 또는 희석 비율을 검증하여 이 시험 방법이 사용자의 기준을 충족하도록 하는 것은 사용자의 책임입니다.

식품

1. Demi-Fraser Broth 증균 배지(구연산 철 암모늄 포함)가 주변 실험실 온도와 평형을 유지하도록 하십시오.
2. 표 2에 따라 무균 방식으로 증균 배지와 시료를 조합합니다. 모든 육류와 입자가 매우 미세한 시료에 대해서는 필터 백을 사용하는 것이 좋습니다.
3. 2±0.2분 동안 블렌딩 또는 스토마킹을 하거나, 손으로 혼합하여 완전히 균질화합니다. 표 2에 따라 37±1°C에서 배양합니다.
4. 비가공 유제품의 경우 1차 증균 0.1mL를 10mL Fraser Broth에 옮기십시오. 37±1°C에서 20-24시간 동안 배양합니다.

환경 시료

시료 수집 장치는 살균제의 효과를 비활성화하기 위해 중화제로 수화한 스폰지일 수 있습니다. 3M은 살생물제가 없는 셀룰로오스 스폰지의 사용을 권장합니다. 중화제는 Dey-Engley(D/E) Neutralizing Broth 또는 Letheen broth일 수 있습니다. 시료 추출 후 해당 영역을 살균하는 것이 좋습니다.

경고: 스폰지용 수화 용액으로 아릴설포네이트 화합물을 함유하는 NB(Neutralizing Buffer)를 사용하기로 선택하는 경우, 오염된 제품 출시를 초래하는 위음성 결과와 관련된 위험을 줄이려면 시험 전에 증균된 환경 시료를 1:2로 희석해야 합니다(시료 1부분을 멸균 증균 배지 1부분에 넣음).

표면의 병원체 존재 유무를 확인하기 위해 권장되는 시료 추출 영역 크기는 100cm²(10cmx10cm 또는 4"x4") 이상입니다. 스폰지로 시료 추출 시, 양방향으로(왼쪽에서 오른쪽, 다음으로 위/아래) 전체 영역을 가리거나 현재 시료 추출 계획서에 따르거나 FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ 또는 ISO 18593⁽³⁾ 지침에 따라 환경 시료를 수집하십시오.

1. Demi-Fraser Broth 증균 배지(구연산 철 암모늄 포함)가 주변 실험실 온도와 평형을 유지하도록 하십시오.
2. 표 2에 따라 증균 배지와 시료를 무균 방식으로 조합합니다.
3. 2±0.2분 동안 블렌딩 또는 스토마킹을 하거나, 손으로 혼합하여 완전히 균질화합니다. 37±1°C에서 24-30시간 동안 배양합니다.

표 2: Demi-Fraser Broth 증균을 사용하는 증균 계획서

시료 매트릭스	시료 크기	증균 배지양 (mL)	증균 온도 (°C)	증균 시간 (hr)				
열처리, 조리, 염지육, 가공류, 해산물 및 생선 열처리/저온 살균된 유제품 농작물 및 채소 다중 성분 식품	25g	225	37	24-30				
환경 시료	스폰지 1개	100 또는 225	37	24-30				
	면봉 1개	10	37	24-30				
날고기, 가공류, 해산물, 생선	25g	475	37	28-32				
시료 매트릭스	1차 증균(Demi-Fraser Broth)				2차 증균(Fraser Broth)			시료 분석량 ^(a)
	시료 크기	증균 배지양 (mL)	증균 온도 (°C)	증균 시간 (hr)	시료 크기	증균 온도 (°C)	증균 시간(hr)	
무살균 유제품	25g	225	37	20-24	0.1mL-10mL Fraser Broth를 분주합니다.	37	20-24	10µL

(a) LS(Lysis Solution) 튜브로 분주된 시료의 양 용해 섹션의 4.6단계를 참조하십시오.

3M™ 분자 검출 간편 장착 트레이 준비

1. 1-5%(v: v 물) 가정용 표백 용액에 천을 적서 3M™ 분자 검출 간편 장착 트레이를 닦습니다.
2. 물로 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 헹굽니다.
3. 1회용 타월을 사용하여 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 닦아서 말립니다.
4. 사용하기 전에 3M 분자 검출 간편 장착 트레이가 마른 상태인지 확인하십시오.

3M™ 분자 검출 냉각 블록 인서트 준비

3M™ 분자 검출 냉각 블록을 바로 실험실 벤치에 놓습니다(3M™ 분자 검출 냉각 블록 트레이가 사용되지 않음). 주변 실험실 온도(20-25°C)에서 냉각 블록을 사용합니다.

3M™ 분자 검출 히팅 블록 인서트 준비

건조 블록 히터 장치에 3M™ 분자 검출 히팅 블록 인서를 놓습니다. 건조 블록 히터 장치를 켜고 3M 분자 검출 히팅 블록 인서가 100±1°C를 유지할 수 있도록 합니다.

참고: 히터 장치에 따라, 3M 분자 검출 히팅 블록 인서가 온도에 도달하는 데 약 30분이 걸릴 수 있습니다. 적절하고 눈금이 있는 온도계(예: 부분 침지 온도계 또는 디지털 열전대 온도계, 전체 침지 온도계는 안 됨)를 지정된 위치에 놓아 3M 분자 검출 히팅 블록 인서의 온도가 100±1°C인지 확인합니다.

3M™ 분자 검출기 준비

1. 3M™ 분자 검출 소프트웨어를 시작하고 로그인합니다.
2. 3M 분자 검출기를 켭니다.
3. 각 시료에 대한 데이터를 포함하는 실행을 만들거나 편집합니다. 자세한 내용은 3M 분자 검출 시스템 사용 설명서를 참조하십시오.

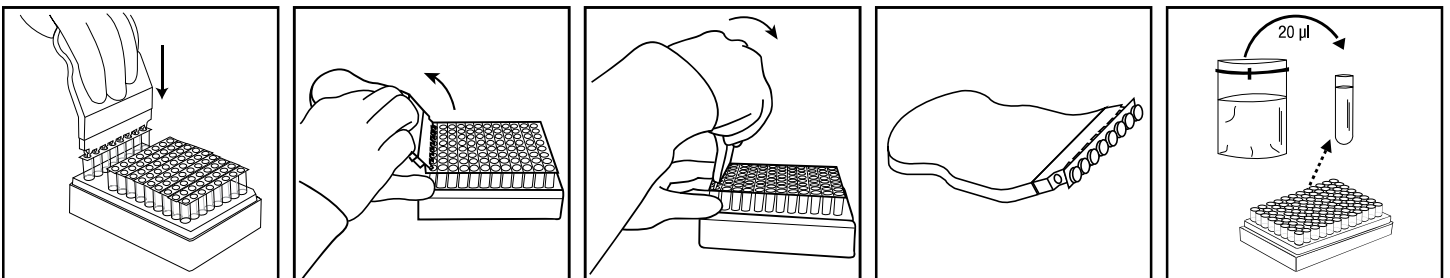
참고: 반응 튜브를 포함한 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 삽입하기 전에 3M 분자 검출기는 60°C에 도달하여 이 온도를 유지해야 합니다. 이 가열 단계는 약 20분이 걸리고 완료되면 기기의 상태 표시줄에 주황색 등이 켜집니다. 기기가 실행할 준비가 되면 상태 표시줄이 녹색으로 바뀝니다.

용해

1. 랙을 실온(20-25°C)에서 하룻밤 동안(16-18시간) 두어 LS(Lysis Solution) 튜브를 예열합니다. LS 튜브를 실온으로 평형시키는 또 다른 방법은 최소 2시간 동안 실험실 벤치에 LS 튜브를 두고, 37±1°C 배양기에 1시간 동안 LS 튜브를 배양하거나 100°C의 건조한 이중 블록 히터에 30초 간 두는 것입니다.
2. 사용하기 최대 4시간 전에 캡이 씌워진 튜브를 뒤집어 섞습니다.
3. 배양기에서 증균 배지를 제거합니다.
4. 각 시료와 음성 대조군(NC)(멸균 증균 배지) 시료에 LS 튜브가 하나 필요합니다.
 - 4.1 LS 튜브 스트립을 원하는 LS 튜브 개수로 자를 수 있습니다. 필요한 개별 LS 튜브 또는 8-튜브 스트립 수를 선택합니다. LS 튜브를 빈 랙에 놓습니다.
 - 4.2 교차 오염을 방지하기 위해 한 번에 하나씩 LS 튜브 스트립의 캡을 벗기고 각 분주 단계에 새 피펫 팁을 사용합니다.
 - 4.3 아래 설명된 대로, 증균된 시료를 LS 튜브로 옮깁니다.

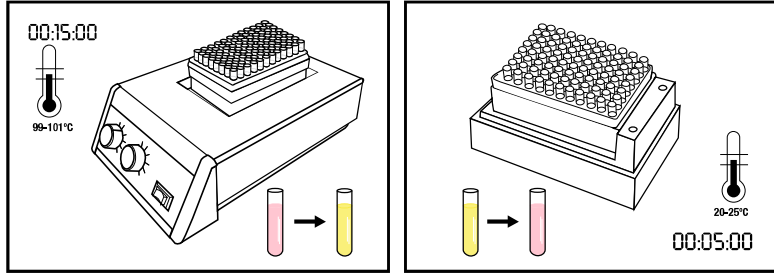
먼저 각 증균된 시료를 개별 LS 튜브로 옮깁니다. NC를 마지막으로 옮깁니다.

- 4.4 3M™ 분자 검출 Cap/Decap Tool-Lysis를 사용하여 한 번에 스트립 하나씩, LS 튜브 스트립 1개의 캡을 벗깁니다.
- 4.5 LS 튜브 캡 폐기 - 재시험을 위해 용해물을 그대로 둘 경우 캡을 깨끗한 용기에 두어 용해 후 다시 사용할 수 있도록 합니다. 보존된 용해물 처리에 대해서는 부록 A를 참조하십시오.
- 4.6 시험 계획서 표에 별다른 표시가 없으면 20µl의 시료를 LS 튜브에 옮기십시오.
5. 각 시료가 스트립의 해당 LS 튜브에 추가될 때까지 4.2단계를 반복합니다.



6. 시험할 시료 수에 대해, 필요한 만큼 4.1-4.6단계를 반복합니다.
7. 모든 시료를 옮겼으면 NC 20µL(멸균 증균 배지, 예: Demi-Fraser Broth)를 LS 튜브에 옮기십시오. 물을 NC로 사용하지 마십시오.
8. 3M 분자 검출 히팅 블록 인서의 온도가 100±1°C인지 확인합니다.

9. 덮개를 씌우지 않은 LS 튜브의 랙을 3M 분자 검출 히팅 블록 인서트에 놓고 15±1분 동안 가열합니다. 가열 중 LS 용액은 분홍색(차가움)에서 노란색(뜨거움)으로 바뀝니다.
 용해 평가 단계 동안 적절하게 열처리가 되지 않은 샘플은 잠재적인 생물학적 위험으로 간주되어 3M 분자 검출기에 절대로 삽입하지 마십시오.
10. 덮개를 씌우지 않은 LS 튜브의 랙을 히팅 블록에서 제거하고 3M 분자 검출 냉각 블록 인서트에 최소 5분, 최대 10분 냉각시킵니다. 분자 검출 냉각 블록 트레이 없이 주변 온도에서 사용된 3M 분자 냉각 블록 인서트는 바로 실험실 벤치에 놓아야 합니다. 식었으면 용해액이 분홍색으로 다시 바뀝니다.
11. LS 튜브의 랙을 3M 분자 검출 냉각 블록 인서트에서 제거합니다.

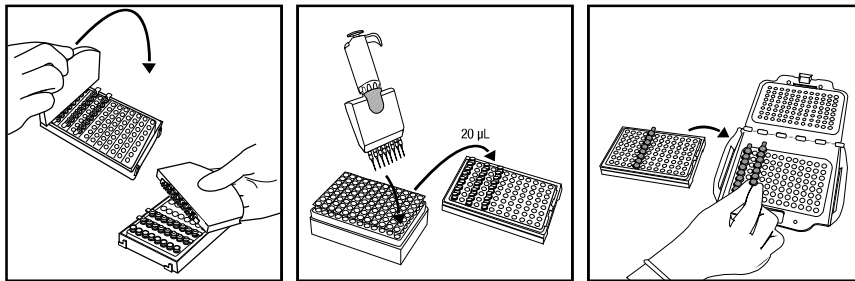


중폭

1. 각 시료와 NC별로 하나의 Reagent 튜브가 필요합니다.
 - 1.1 Reagent 튜브 스트립은 원하는 튜브 번호로 나누어 지게 됩니다. 개별 Reagent 튜브 또는 필요한 8-튜브 스트립의 번호를 선택합니다.
 - 1.2 Reagent 튜브를 빈 랙에 놓습니다.
 - 1.3 튜브 맨 아래 시약 알갱이를 휘젓지 마십시오.
2. 1 RC(Reagent 컨트롤) 튜브를 선택하고 랙에 놓습니다.
3. 교차 오염을 방지하기 위해 한 번에 Reagent 튜브 스트립 1개의 마개를 빼내고 각 분주 단계마다 새 피펫을 사용합니다.
4. 용해물을 Reagent 튜브 및 RC 튜브로 옮기는 방법은 다음과 같습니다:

각 샘플 용해물을 개별 Reagent 튜브로 **먼저** 옮긴 뒤 NC를 옮기십시오. RC 튜브를 **마지막**에 수화시킵니다.

5. 3M™ 분자 검출 Reagent Cap/Decap Tool을 사용하여 Reagent 튜브 캡을 엽니다 – 1 Reagent 튜브 스트립도 같이 엽니다. 캡을 버리십시오.
 - 5.1 LS 튜브에 있는 시료 용해액 20μl를 해당 Reagent 튜브로 옮깁니다. 알갱이를 휘저어서 섞이지 않도록 기울여 붓습니다. 위아래로 가볍게 5번을 피펫팅하여 섞습니다.
 - 5.2 개별 시료 용해물이 스트립의 해당 Reagent 튜브에 추가될 때까지 5.1단계를 반복합니다.
 - 5.3 제공된 추가 마개로 Reagent 튜브를 덮고 3M 분자 검출 Reagent Cap/Decap Tool의 둥근 측면을 사용해 앞뒤로 압력을 가하면서 마개가 제대로 닫혔는지 확인합니다.
 - 5.4 시험할 시료 수에 대해, 필요한 만큼 5.1단계를 반복합니다.
 - 5.5 모든 시료 용해물이 분주되었으면, 4.1단계를 반복하여 20μL의 NC 용해물을 Reagent 튜브로 분주합니다.
 - 5.6 20μL NC 용해물을 RC 튜브로 옮깁니다. 알갱이를 휘저어서 섞이지 않도록 기울여 붓습니다. 위아래로 가볍게 5번을 피펫팅하여 섞습니다.
6. 캡이 씌워진 튜브를 깨끗하고 오염되지 않은 3M 분자 검출 간편 장착 트레이에 내려 놓습니다. 3M 분자 검출 간편 장착 트레이 뚜껑을 닫고 걸쇠로 잠급니다.



7. 3M 분자 검출 소프트웨어에서 구성된 실행을 검토하고 확인합니다.
8. 소프트웨어에서 시작 버튼을 클릭하고 사용할 기기를 선택합니다. 선택한 기기의 뚜껑이 자동으로 열립니다.
9. 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 3M 분자 검출기에 놓고 뚜껑을 닫으면 시검이 시작됩니다. 결과는 75분 이내에 제공되지만 양성 여부는 더 일찍 탐지할 수 있습니다.
10. 시검이 완료되었으면 3M 분자 검출기에서 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 꺼내고 1-5%(v: v 물) 가정용 표백 용액에 1시간 동안 담갔다가 시검 준비 영역에서 떨어진 곳에 폐기하십시오.

알림: 교차 오염으로 인한 위양성의 위험을 최소화하려면 증폭된 DNA를 함유하는 시약 튜브를 절대 열지 마십시오. 여기에는 Reagent 컨트롤, Reagent 및 매트릭스 컨트롤 튜브가 포함됩니다. 항상 밀봉된 시약 튜브를 1-5%(v: v 물) 가정용 표백 용액에 1 시간 동안 담갔다가 시검 준비 영역에서 떨어진 곳에 폐기하십시오.

결과 및 해석

알고리즘은 핵산증폭을 탐지할 때 생성되는 빛 출력 곡선을 해석합니다. 결과는 소프트웨어에 의해 자동으로 분석되고 결과에 기반하여 색상으로 구분됩니다. 양성 또는 음성 결과는 다양한 고유 곡선 매개변수의 분석으로 판별됩니다. 추정 양성 결과는 실시간으로 보고되는 반면, 음성 결과는 실행이 완료된 후 표시됩니다.

추정 양성 시료는 실험실 표준 절차에 따라 또는 적합한 참조 방법 확인^(1,2,3)을 통해 확인해야 합니다. 1차 증균에서 2차 증균 배지(해당하는 경우)로 옮기는 것을 시작으로, 이후 적절한 생화학적 및 혈청학적 방법을 사용하여 평판 작업을 수행하고 균 분리를 확인했는지 여부를 확인합니다.

참고: 이 시스템과 3M 분자 키트2 - 리스테리아 모노사이토제네스용 증폭 시약에 "배경" RLU(Relative Light Unit)가 있기 때문에 음성 시료라도 0 값이 표시되지 않습니다.

이례적인 빛 출력이 나타나는 경우, 알고리즘은 이를 "검사(Inspect)"로 분류합니다. 3M은 모든 검사 시료에 대한 시검의 반복을 권장합니다. 결과가 계속 검사인 경우, 기본 설정한 방법을 사용하거나 현지 규정에 따라 확인 시험을 진행하십시오.

구체적인 용도나 절차에 대하여 궁금한 점이 있으면 당사 웹 사이트(www.3M.com/foodsafety)를 방문하거나 현지 3M 대리점 또는 판매업체로 문의하십시오.

참조:

1. 미국 식약청(FDA) 세균학적 분석 설명서, 10장: 식품에서 리스테리아 모노사이토제네스 검출 및 측정, C-6항, 2011년 4월 버전.
2. 미국 농림부(USDA) FSIS 미생물학 실험실 가이드북 8.08. 붉은 육류, 가공육 및 달걀 제품, 환경 시료에서 리스테리아 모노사이토제네스 분리 및 동정. 발효일: 2012년 11월 6일
3. ISO 11290-1, Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* (식품 및 동물 사료의 미생물학 - 리스테리아 모노사이토제네스의 검출 및 측정을 위한 수평 방법), 1차 수정안, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025, 시험 및 검정 실험실 역량에 대한 일반 요구 사항.
5. ISO 7218, 식품 및 동물 먹이류의 미생물학 – 미생물학적 시험 관련 일반 규칙.
6. ISO 18593, 식품 및 동물 사료 제품의 미생물학 – 접촉판과 면봉을 사용하여 표면에서 시료를 추출하는 기법에 대한 수평방법.

부록 A. 시험 계획서 중단: 열처리된 용해물 보관 및 재시험

1. 열처리된 용해물을 보관하려면 깨끗한 캡으로 용해 튜브를 다시 씩웁니다("용해", 4.5 참조).
2. 4-8°C에서 최대 72시간 동안 보관합니다.
3. 2-3번 뒤집어서 혼합하여 보관된 시료를 증폭하도록 준비합니다.
4. 튜브의 캡을 벗깁니다.
5. 3M 분자 검출 히팅 블록 인서트에 혼합된 용해물 튜브를 놓고 100±1°C에서 5±1분 간 가열합니다.
6. 덮개를 씌우지 않은 LS 튜브의 랙을 히팅 블록에서 제거하고 3M 분자 검출 냉각 블록 인서트에 최소 5분, 최대 10분 냉각시킵니다.
7. 위에서 상세히 설명한 '증폭' 섹션의 시험 계획서를 계속합니다.

제품 라벨 시료 설명



주의 또는 경고, 제품 설명서 참조.



제품 설명서를 참조하십시오.



상자의 lot(로트)는 로트 번호를 나타냅니다.



모래시계는 월과 연도 순으로 표시되며 유효 기간을 나타냅니다.



보관 온도 제한사항.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

Petunjuk Produk

Deteksi Molekuler untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 MDA2LM096

DESKRIPSI PRODUK DAN PENGGUNAAN YANG DIMAKSUDKAN

Deteksi Molekuler 3M™ untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 digunakan dengan Sistem Deteksi Molekuler 3M™ untuk deteksi spesies *Listeria* dengan cepat dan spesifik dalam makanan yang diperkaya dan sampel lingkungan pemrosesan makanan.

Pengujian Deteksi Molekuler 3M menggunakan amplifikasi tabung tunggal untuk mengamplifikasi secara cepat rangkaian asam nukleat dengan kekhususan dan kepekaan tinggi, dikombinasikan dengan bioluminesens untuk mendeteksi amplifikasi. Hasil yang dianggap positif dilaporkan dalam waktu nyata sedangkan hasil yang negatif akan ditampilkan setelah pengujian selesai. Hasil yang dianggap positif harus dikonfirmasi menggunakan metode preferensi atau yang sesuai dengan peraturan setempat^(1, 2, 3).

Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 dimaksudkan untuk penggunaan dalam lingkungan laboratorium oleh tenaga profesional terlatih dalam teknik laboratorium. 3M tidak mendokumentasikan penggunaan produk ini dalam industri selain makanan atau minuman. Misalnya, 3M tidak mendokumentasikan produk ini untuk menguji sampel air, farmasetikal, kosmetik, sampel klinis atau veteriner. Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 belum dievaluasi dengan segala kemungkinan protokol pengujian atau dengan segala kemungkinan rantai bakteri.

Untuk semua metode uji, sumber medium pengayaan dapat memengaruhi hasil. 3M telah mengevaluasi Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 dengan Kaldu Demi-Fraser yang mengandung Feri Amonium Sitrat. Formulasi khusus medium ini seperti di bawah ini.

Formula Khusus Basis Kaldu Demi-Fraser (g/L)

Sodium Klorida	20 g
Natrium Fosfat berbasis dua anhidrat*	9,6 g
Kaldu Sapi	5,0 g
Pencernaan Kasein dalam Pankreas	5,0 g
Degradasi Protein pada Jaringan Hewan	5,0 g
Ekstrak Ragi	5,0 g
Litium Klorida	3,0 g
Potasium Fosfat monobasa	1,35 g
Eskulin	1,0 g
HCl Akriflavina	0,0125 g
Asam Nalikdiksarat	0,01 g
* Pengganti: Natrium Fosfat berbasis dua dihidrat	12,0 g

Suplemen Kaldu Fraser

(Kandungan per 10 mL ampul. Satu ampul ditambahkan pada satu liter medium basal.)

Feri Amonium Sitrat	0,5g/10mL
---------------------	-----------

pH akhir 7,2 ± 0,2 pada 25°C

Instrumen Deteksi Molekuler 3M™ dimaksudkan untuk digunakan pada sampel yang telah mendapatkan perlakuan pemanasan selama tahap pengujian lisis, yang dirancang untuk mematikan organisme yang ada di dalam sampel tersebut. Sampel yang belum mendapatkan perlakuan pemanasan dengan benar selama tahap pengujian lisis dapat dianggap sebagai potensi bahaya biologis dan TIDAK boleh dimasukkan ke dalam Instrumen Deteksi Molekuler 3M.

Penguji Keamanan Makanan 3M sesuai dengan sertifikasi ISO (International Organization for Standardization) 9001 dalam hal desain dan manufaktur.

Kit uji Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 berisikan 96 tes, diuraikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komponen Kit

Alat	Identifikasi	Kuantitas	Jumlah	Keterangan
Tabung Larutan Lisis (LS)	Larutan merah muda dalam tabung bening	96 (12 strip kali 8 tabung)	580 µL LS per tabung	Tersusun dalam rak dan siap digunakan
<i>Listeria monocytogenes</i> tabung Reagen	Tabung kuning	96 (12 strip kali 8 tabung)	Campuran amplifikasi dan deteksi spesifik liofilik	Siap digunakan
Kapsul tambahan	Kapsul Kuning	96 (12 strip kali 8 kapsul)		Siap digunakan
Kontrol Reagen (RC)	Tabung flip-top bening	16 (2 kantung dari 8 tabung tersendiri)	Campuran kontrol DNA, amplifikasi dan deteksi terliofilisasi	Siap digunakan
Panduan Mulai Cepat		1		

Kontrol Negatif, tidak disediakan dalam kit, adalah medium pengayaan steril, misal Kaldu Demi-Fraser. Jangan gunakan air sebagai Kontrol Negatif.

**KESELAMATAN**

Pengguna harus membaca, mengerti dan mengikuti semua informasi keselamatan dalam petunjuk untuk Sistem Deteksi Molekuler 3M dan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2. Simpanlah petunjuk keselamatan untuk referensi mendatang.

⚠ PERINGATAN: Menandakan situasi berbahaya, yang, apabila tidak dihindari, dapat menyebabkan kematian atau cedera serius dan/atau kerusakan properti.

⚠ AWAS: Menandakan situasi berbahaya, yang, apabila tidak dihindari, dapat menyebabkan cedera tingkat ringan atau sedang dan/atau kerusakan properti.

PERHATIAN: Menandakan situasi yang mungkin berbahaya yang, apabila tidak dihindari, dapat menyebabkan kerusakan properti.

⚠ PERINGATAN

Jangan menggunakan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 untuk mendiagnosis kondisi manusia atau hewan.

Metode Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 dapat menghasilkan *Listeria monocytogenes* hingga ke tingkat yang cukup untuk menyebabkan bayi lahir mati dan kematian pada wanita hamil dan mereka yang rentan/luruh imun, jika terpapar.

Pengguna harus melatih personelnnya dalam teknik pengujian yang benar: misalnya, Praktik Laboratorium yang Baik, ISO 17025⁽⁴⁾, atau ISO 7218⁽⁵⁾.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan hasil yang negatif salah yang dapat menyebabkan pelepasan produk yang terkontaminasi:

- Patuhi protokol dan lakukan pengujian tepat seperti apa yang tercantum dalam petunjuk produk.
- Simpan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 sesuai yang tercantum pada kemasan dan petunjuk produk.
- Selalu gunakan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 sebelum tanggal kedaluwarsa.
- Gunakan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 dalam sampel makanan, sampel lingkungan pemrosesan pakan dan makanan yang telah divalidasi secara internal atau oleh pihak ketiga.
- Gunakan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 hanya pada permukaan, sanitasi, protokol dan rantai bakteri yang telah divalidasi secara internal atau oleh pihak ketiga.
- Untuk sampel lingkungan yang mengandung Bufer Penetrasi dengan senyawa kompleks aril sulfonat, lakukan pengenceran 1:2 sebelum pengujian (1 bagian sampel ke dalam 1 bagian kaldu pengaya steril). Produk penanganan sampel 3M™ yang mencakup penyangga penetrasi: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB dan HS119510NB.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan paparan terhadap bahan kimia dan bahaya biologis:

- Sangat dianjurkan untuk menginformasikan kepada staf laboratorium wanita mengenai risiko terhadap perkembangan janin akibat infeksi ibu melalui paparan terhadap *Listeria monocytogenes*.
- Lakukan pengujian patogen di laboratorium yang memiliki peralatan lengkap di bawah kontrol personel yang telah terlatih.
- Selalu patuhi praktik keselamatan standar laboratorium, termasuk memakai peralatan pelindung yang benar dan pelindung mata saat menangani reagen dan sampel yang terkontaminasi.
- Hindari kontak dengan isi media pengayaan dan tabung reagen setelah amplifikasi.
- Buang sampel yang diperkaya sesuai dengan standar industri yang berlaku saat ini.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan kontaminasi silang saat persiapan pengujian:

- Selalu gunakan sarung tangan (untuk melindungi pengguna dan mencegah timbulnya nuklease).

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan kontaminasi lingkungan:

- Patuhi standar industri pembuangan limbah yang terkontaminasi yang berlaku saat ini.

⚠ AWAS

- Jangan mengatur suhu pada alat pemanas melebihi batas yang direkomendasikan.
- Jangan melebihi waktu pemanasan yang direkomendasikan.
- Gunakan termometer yang dikalibrasi dan tepat untuk memverifikasi suhu Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M™ (misalnya, termometer yang dimasukkan sebagian atau termometer digital ganda, bukan termometer yang dimasukkan keseluruhan.) Termometer harus ditempatkan pada lokasi yang ditentukan dalam Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M.

PERHATIAN

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan kontaminasi silang saat persiapan pengujian:

- Dianjurkan untuk menggunakan ujung pipet halang aerosol ujung runcing (berfilter) dengan derajat molekuler biologi, yang steril.
- Gunakan ujung pipet yang baru setiap kali memindahkan sampel.
- Gunakan Praktik Laboratorium yang Baik untuk memindahkan sampel dari tabung pengayaan ke tabung lisis. Untuk mencegah kontaminasi pipet, pengguna boleh memilih untuk menambahkan langkah perantara dalam proses pemindahan. Misalnya, pengguna dapat memindahkan masing-masing sampel yang diperkaya ke dalam tabung steril.
- Gunakan stasiun kerja biologi molekuler yang memiliki lampu germisida, jika tersedia.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan hasil yang positif salah:

- Jangan pernah membuka tabung setelah amplifikasi.
- Buang tabung yang terkontaminasi dengan merendamnya ke dalam larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) selama 1 jam dan jauhkan dari tempat persiapan pengujian.

Baca Lembar Data Keselamatan untuk informasi tambahan dan peraturan setempat tentang pembuangan.

Apabila Anda memiliki pertanyaan yang spesifik tentang penerapan atau prosedur, kunjungi situs web kami di www.3M.com/foodsafety atau hubungi perwakilan atau distributor 3M setempat.

PEMBATASAN GARANSI / PENGGANTIAN TERBATAS

KECUALI SEBAGAIMANA DITENTUKAN DI BAGIAN GARANSI TERBATAS UNTUK SETIAP KEMASAN PRODUK, 3M TIDAK BERTANGGUNG JAWAB TERHADAP SEMUA GARANSI SECARA TERTULIS MAUPUN SECARA TERSIRAT, TERMASUK NAMUN TIDAK TERBATAS PADA, JAMINAN KELAYAKAN JUAL ATAU KESESUAIAN UNTUK PENGGUNAAN TERTENTU. Apabila ada Produk Keselamatan Makanan 3M yang cacat, 3M atau distributor resminya, sesuai kebijakannya, akan mengganti atau mengganti harga pembelian produk. Penggantian ini ditawarkan kepada Anda secara eksklusif. Anda harus segera melapor kepada 3M dalam waktu tiga puluh hari sejak menemukan adanya dugaan cacat pada produk dan harus mengembalikannya kepada 3M. Silakan hubungi Layanan Pelanggan (1-800-328-1671 di A.S.) atau perwakilan Keselamatan Makanan 3M resmi untuk mengetahui Pengesahan Barang yang Dikembalikan.

PEMBATASAN TANGGUNG JAWAB 3M

3M TIDAK BERTANGGUNG JAWAB ATAS SEGALA BENTUK KEHILANGAN ATAU KERUSAKAN, BAIK KERUSAKAN SECARA LANGSUNG, TIDAK LANGSUNG, KHUSUS, INSIDENTAL MAUPUN KONSEKUENSIAL, TERMASUK NAMUN TIDAK TERBATAS PADA HILANGNYA KEUNTUNGAN. Bagaimanapun juga, sesuai teori hukum mana pun, 3M tidak bertanggung jawab melebihi dari harga pembelian produk yang dinyatakan sebagai cacat.

TANGGUNG JAWAB PENGGUNA

Pengguna bertanggung jawab untuk memahami instruksi dan informasi produk. Kunjungi situs web kami di www.3M.com/foodsafety, atau hubungi perwakilan atau distributor 3M setempat.

Saat memilih metode pengujian, penting untuk diketahui bahwa faktor eksternal seperti metode pengambilan sampel, protokol pengujian, preparasi sampel, penanganan, dan teknik laboratorium dapat mempengaruhi hasilnya.

Pengguna bertanggung jawab untuk memilih metode atau produk pengujian untuk mengevaluasi sejumlah sampel yang memadai dengan matriks dan ketentuan mikrobial yang tepat untuk memastikan bahwa metode pengujian memenuhi kriteria pengguna.

Pengguna juga bertanggung jawab untuk menentukan bahwa semua metode dan hasil pengujian memenuhi ketentuan pelanggan dan supplier.

Untuk semua metode pengujian, hasil yang diperoleh dari penggunaan produk Keselamatan Makanan 3M bukan merupakan jaminan kualitas terhadap matriks atau proses yang diujikan.

Untuk membantu pelanggan mengevaluasi metode untuk berbagai matriks makanan, 3M telah mengembangkan kit Kontrol Matriks Deteksi Molekuler 3M™. Jika diperlukan, gunakan Kontrol Matriks (KM) untuk menentukan apakah matriks memengaruhi hasil Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2. Uji beberapa contoh sampel matriks, yaitu sampel yang diperoleh dari sumber yang berbeda, selama periode validasi manapun bila mengadopsi metode 3M atau bila menguji matriks baru atau tidak dikenal atau matriks yang sudah mengalami perubahan bahan mentah atau perubahan proses.

Matriks dapat didefinisikan sebagai suatu tipe produk dengan properti intrinsik seperti komposisi dan proses. Perbedaan antara matriks bisa sama sederhananya dengan dampak yang ditimbulkan karena perbedaan tersebut dalam pemrosesan atau presentasi, misalnya mentah vs. dipasteurisasi; segar vs. dikeringkan, dll.

PENYIMPANAN DAN PEMBUANGAN

Simpanlah Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 pada 2-8°C. Jangan dibekukan. Jauhkan kit dari cahaya selama penyimpanan. Setelah membuka kit, periksa apakah kantung foil masih utuh. Jangan digunakan jika kantung tersebut rusak. Setelah dibuka, tabung reagen yang tidak digunakan harus selalu disimpan dalam kantung yang dapat direkatkan kembali dan diberi penyerap kelembaban (desiccant) untuk menjaga stabilitas reagen terliofilisasi. Simpan kantung yang telah dibuka pada suhu 2-8°C, selama tidak lebih dari 60 hari.

Jangan gunakan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 setelah tanggal kedaluwarsa. Tanggal kedaluwarsa dan nomor lot tercantum pada label di bagian luar kotak. Setelah penggunaan, medium pengayaan dan tabung Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian *Listeria monocytogenes* 2 berpotensi mengandung bahan patogen. Setelah pengujian selesai, patuhi standar industri pembuangan limbah yang terkontaminasi yang berlaku saat ini. Baca Lembar Data Keselamatan untuk informasi tambahan dan peraturan setempat tentang pembuangan.

PETUNJUK PENGGUNAAN

Patuhi semua petunjuk dengan seksama. Gagal mematuhi dapat menyebabkan hasil tidak akurat.

Secara berkala bersihkan kontaminasi pada meja dan peralatan laboratorium (pipet, alat pembuka/penutup, dsb.) dengan larutan pemutih rumah tangga 1- 5% (v: v dalam air) atau larutan penghilang DNA.

PENGAYAAN SAMPEL

Tabel 2 menyajikan panduan untuk pengayaan sampel makanan dan lingkungan. Pengguna bertanggung jawab untuk memvalidasi protokol pengambilan sampel atau rasio pengenceran alternatif guna memastikan bahwa metode pengujian ini memenuhi kriteria pengguna.

Makanan

1. Biarkan medium pengayaan Kaldu Demi-Fraser (termasuk feri amonium sitrat) untuk menyeimbangkan suhu sekitar laboratorium.
2. Secara aseptis, kombinasikan medium pengayaan dan sampel sesuai Tabel 2. Untuk semua sampel daging dan sampel yang mengandung banyak partikel, disarankan untuk menggunakan kantung filter.
3. Homogenkan baik dengan metode membaurkan, stomaching, atau menjepit dengan tangan secara menyeluruh selama $2 \pm 0,2$ menit. Inkubasikan pada $37 \pm 1^\circ\text{C}$ sesuai dengan Tabel 2.
4. Untuk produk susu mentah, pindahkan 0,1 mL pengayaan primer ke dalam 10 mL Kaldu Fraser. Inkubasikan pada $37 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 20-24 jam.

Sampel lingkungan

Alat pengumpulan sampel dapat berupa spons yang diberi larutan penetral untuk menghilangkan efek sanitiser. 3M menyarankan penggunaan spons dari selulosa bebas biosida. Larutan penetral bisa Kaldu Penetral Dey-Engley (D/E) atau kaldu Lethen. Disarankan untuk melakukan sanitasi area setelah pengambilan sampel.

PERINGATAN: Apabila Anda memilih menggunakan Penyangga Penetral (NB) yang mengandung kompleks aril sulfonat sebagai larutan hidrasi untuk spons, maka diperlukan pelarutan 1:2 (1 perbandingan sampel dilarutkan dengan 1 perbandingan kaldu pengayaan steril) pada sampel lingkungan yang diperkaya sebelum pengujian untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan hasil yang negatif salah yang dapat menyebabkan pelepasan produk yang terkontaminasi.

Ukuran area pengambilan sampel yang disarankan untuk memverifikasi adanya atau tiadanya patogen pada permukaan minimal 100 cm² (10 cm x 10 cm atau 4"x4"). Saat mengambil sampel dengan spons, jangkau seluruh area dalam dua arah (dari kiri ke kanan, kemudian dari atas ke bawah) atau kumpulkan sampel lingkungan sesuai protokol pengambilan sampel yang ada atau sesuai panduan FDA BAM⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ atau ISO 18593⁽⁶⁾.

1. Biarkan medium pengayaan Kaldu Demi-Fraser (termasuk feri amonium sitrat) untuk menyeimbangkan suhu sekitar laboratorium.
2. Secara aseptis, kombinasikan medium pengayaan dan sampel sesuai dengan Table 2.
3. Homogenkan baik dengan metode membaurkan, stomaching, atau menjepit dengan tangan secara menyeluruh selama $2 \pm 0,2$ menit. Inkubasikan pada $37 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 24-30 jam.

Tabel 2: Protokol pengayaan menggunakan Pengayaan Kaldu Demi-Fraser

Matriks Sampel	Ukuran Sampel	Volume Kaldu Pengayaan (mL)	Suhu Pengayaan (°C)	Waktu Pengayaan (jam)				
Daging, unggas, makanan laut dan ikan dengan proses pemanasan, dimasak, diawetkan Produk susu dengan proses pemanasan/ pasteurisasi Hasil bumi dan sayuran Makanan multikomponen	25 g	225	37	24-30				
Sampel lingkungan	1 spons	100 atau 225	37	24-30				
	1 penyeka	10	37	24-30				
Daging mentah, unggas, makanan laut, ikan	25 g	475	37	28-32				
Matriks Sampel	Pengayaan Primer (Kaldu Demi-Fraser)				Pengayaan Sekunder (Kaldu Fraser)			Volume Analisis Sampel ^(a)
	Ukuran Sampel	Volume Kaldu Pengayaan (mL)	Suhu Pengayaan (°C)	Waktu Pengayaan (jam)	Ukuran Sampel	Suhu Pengayaan (°C)	Waktu Pengayaan (jam)	
Produk susu mentah	25 g	225	37	20-24	Pindahkan 0,1 mL ke dalam 10 mL Kaldu Fraser	37	20-24	10 µL

(a) Volume sampel yang dipindahkan ke tabung Larutan Lisis. Lihat langkah 4,6 bagian Lisis.

PERSIAPAN BAKI PEMUAT KECEPATAN DETEKSI MOLEKULER 3M™

1. Basahi kain dengan larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v: v dalam air) dan seka Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M™.
2. Bilas Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M dengan air.
3. Gunakan handuk sekali pakai untuk menyeka Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M hingga kering.
4. Pastikan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M dalam kondisi kering sebelum digunakan.

PERSIAPAN SISIPAN BLOK PENDINGIN DETEKSI MOLEKULER 3M™

Letakkan Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M™ pada meja laboratorium; (Baki Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M™ tidak digunakan). Gunakan blok pendingin pada suhu ruangan laboratorium (20-25°C).

PERSIAPAN SISIPAN BLOK PEMANAS DETEKSI MOLEKULER 3M™

Letakkan Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M™ dalam unit pemanas blok kering. Hidupkan unit pemanas blok kering dan atur suhu supaya Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M dapat mencapai dan mempertahankan suhu $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

CATATAN: Tergantung pada unit pemanas, tunggu selama sekitar 30 menit hingga Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M mencapai suhu yang diinginkan. Gunakan termometer yang dikalibrasi dan tepat (misalnya, termometer yang dimasukkan sebagian atau termometer digital ganda, bukan termometer yang dimasukkan keseluruhan) yang diletakkan di lokasi yang ditentukan, lakukan verifikasi bahwa Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M berada pada $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

PERSIAPAN INSTRUMEN DETEKSI MOLEKULER 3M™

1. Buka Perangkat Lunak Deteksi Molekuler 3M™ kemudian login.
2. Hidupkan Instrumen Deteksi Molekuler 3M.
3. Buat atau edit proses dengan data untuk setiap sampel. Baca Panduan Pengguna Sistem Deteksi Molekuler 3M untuk keterangan lengkap.

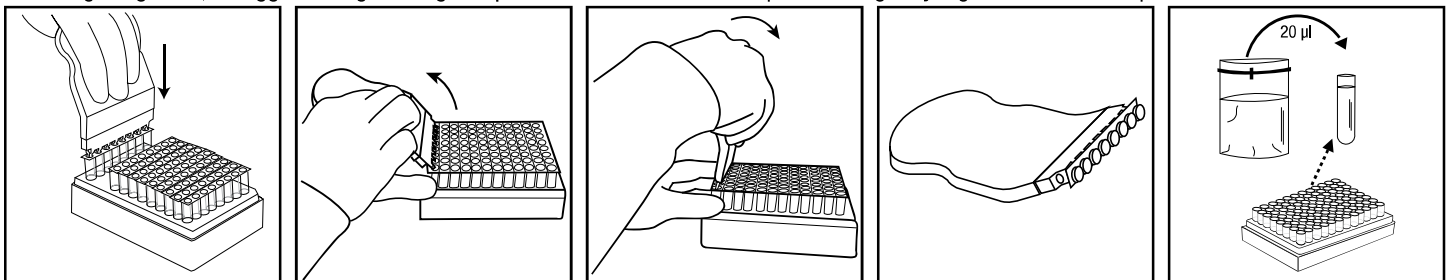
CATATAN: Instrumen Deteksi Molekuler 3M harus mencapai dan tetap berada pada suhu 60°C sebelum memasukkan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M dengan tabung reaksi. Tahap pemanasan ini memerlukan waktu sekitar 20 menit dan ditandai dengan nyala lampu ORANYE pada bilah status instrumen. Setelah instrumen siap digunakan, bilah status akan berubah menjadi HIJAU.

LISIS

1. Biarkan tabung larutan lisis (LS) hangat dengan menyatel rak pada suhu kamar (20-25 °C) semalaman (16-18 jam). Alternatif untuk menyeimbangkan tabung LS pada suhu kamar adalah mengatur tabung LS pada meja laboratorium paling sedikit selama 2 jam, menginkubasi tabung LS pada inkubator $37 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 1 jam atau letakkan pada pemanas blok ganda kering selama 30 detik pada 100°C .
2. Balikkan tabung yang ditutup untuk mengaduk, sampai 4 jam sebelum penggunaan.
3. Buang kaldu pengayaan dari inkubator.
4. Satu tabung LS diperlukan untuk setiap sampel dan sampel Kontrol Negatif (NC) (medium pengayaan steril).
 - 4,1 Strip tabung LS dapat dipotong sesuai jumlah tabung LS yang diinginkan. Pilih jumlah tabung LS tersendiri atau strip 8 tabung yang diperlukan. Letakkan tabung LS di rak yang kosong.
 - 4,2 Untuk menghindari kontaminasi silang, buka tutup strip tabung LS satu per satu dan gunakan kemudian ganti ujung pipet untuk setiap tahap pemindahan.
 - 4,3 Pindahkan sampel yang diperkaya ke tabung LS sesuai petunjuk di bawah ini:

Pertama, pindahkan setiap sampel yang diperkaya ke tabung LS tersendiri. Pindahkan NC **paling akhir**.

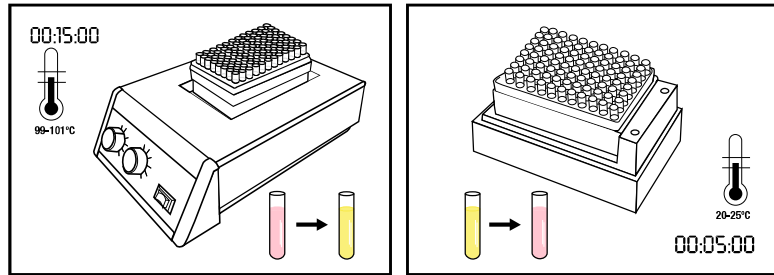
- 4,4 Gunakan Alat Penutup/Pembuka Deteksi Molekuler 3M™–Lisis untuk membuka tabung LS – satu per satu strip.
- 4,5 Lepaskan penutup tabung LS – jika lisat akan disimpan untuk pengujian ulang, letakkan penutup ke dalam wadah kering untuk penggunaan ulang setelah lisis. Untuk memroses lisat yang disimpan, lihat Apendiks A.
- 4,6 Pindahkan 20 μL sampel ke dalam tabung LS kecuali diindikasikan lain dalam tabel protokol.
5. Ulangi langkah 4,2 hingga masing-masing sampel Lisat telah ditambahkan pada tabung LS yang sesuai dalam strip.



6. Ulangi langkah 4,1 hingga 4,6 sesuai keperluan, sesuai jumlah sampel yang akan diuji.
7. Ketika semua sampel sudah dipindahkan, pindahkan 20 μL NC (medium pengayaan steril, misalnya Kaldu Demi-Fraser) ke dalam tabung LS. Jangan gunakan air sebagai NC.
8. Pastikan bahwa suhu Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M berada pada $100 \pm 1^\circ\text{C}$.
9. Letakkan rak yang tidak tertutup tabung LS di dalam Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M dan panaskan selama 15 ± 1 menit. Selama pemanasan, larutan LS akan berubah dari merah muda (dingin) menjadi kuning (panas).

Sampel yang belum mendapatkan perlakuan pemanasan dengan benar selama tahap pengujian lisis dapat dianggap sebagai potensi bahaya biologis dan TIDAK boleh dimasukkan ke dalam Instrumen Deteksi Molekuler 3M.

10. Lepaskan rak tidak tertutup tabung LS dari blok pemanasan dan biarkan dingin dalam Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M paling sedikit 5 menit dan maximum 10 menit. Sisipan Blok Pendingin Molekuler 3M, digunakan pada suhu sekitar tanpa Baki Blok Pendingin Deteksi Molekuler harus berada secara langsung di meja laboratorium. Ketika dingin, larutan lisis akan kembali ke warna merah muda.
11. Keluarkan rak tabung LS dari Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M.

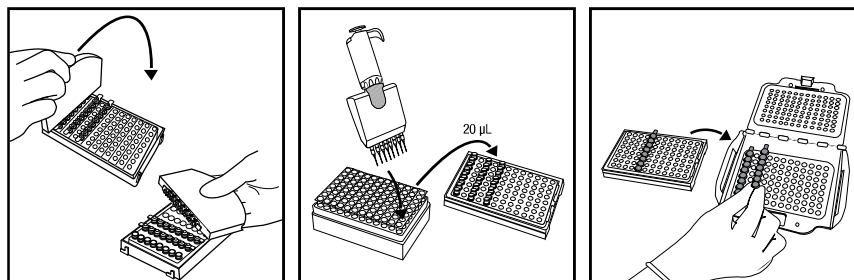


AMPLIFIKASI

1. Diperlukan satu tabung Reagen untuk masing-masing sampel dan NC.
 - 1,1 Strip tabung Reagen dapat dipotong sesuai jumlah tabung yang diinginkan. Pilih jumlah tabung Reagen tersendiri atau strip 8 tabung yang diperlukan.
 - 1,2 Letakkan tabung Reagen di rak yang kosong.
 - 1,3 Jangan sampai mengguncang pelet reagen di bagian bawah tabung.
2. Pilih 1 tabung Kontrol Reagen (RC) dan letakkan di rak.
3. Untuk menghindari kontaminasi silang, buka tutup strip tabung Reagen satu per satu dan gunakan kemudian ganti ujung pipet untuk setiap tahap pemindahan.
4. Pindahkan lisat ke tabung Reagen dan tabung RC sesuai petunjuk berikut ini:

Pindahkan setiap sampel lisat ke tabung Reagen tersendiri **terlebih dahulu** baru kemudian NC. **Terakhir** basahkan tabung RC.

5. Gunakan Alat Penutup/Pembuka Deteksi Molekuler 3M™ – Reagen untuk membuka tabung Reagen – satu per satu strip Reagen. Buang penutup.
 - 5,1 Pindahkan 20 µL lisat Sampel dalam tabung LS ke dalam tabung Reagen. Semprotkan dengan kemiringan tertentu sehingga tidak mengacaukan pelet. Campurkan dengan cara 5 kali menyedot dan menyemburkan perlahan-lahan.
 - 5,2 Ulangi langkah 5,1 hingga masing-masing sampel Lisat telah ditambahkan pada tabung Reagen yang sesuai dalam strip.
 - 5,3 Tutuplah tabung Reagen dengan penutup ekstra yang disediakan dan gunakan sisi tumpul dari Alat Penutup/Pembuka Deteksi Molekuler 3M-Reagen untuk menekan dengan gerakan ke muka dan ke belakang untuk memastikan penutup terpasang dengan ketat.
 - 5,4 Ulangi langkah 5,1 hingga sesuai keperluan, sesuai jumlah sampel yang akan diuji.
 - 5,5 Jika semua sampel lisat sudah dipindahkan, ulangi 4,1 untuk memindahkan 20 µL lisat NC ke tabung Reagen.
 - 5,6 Pindahkan **20 µL lisat NC ke tabung RC**. Semprotkan dengan kemiringan tertentu sehingga tidak mengacaukan pelet. Campurkan dengan cara 5 kali menyedot dan menyemburkan perlahan-lahan.
6. Masukkan tabung tertutup ke dalam Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M yang bersih dan yang telah didekontaminasi. Tutup dan segel tutup Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M.



7. Periksa dan konfirmasi proses yang telah dikonfigurasi di Perangkat Lunak Deteksi Molekuler 3M.
8. Klik tombol Start di perangkat lunak dan pilih instrumen yang akan digunakan. Tutup instrumen yang dipilih akan membuka secara otomatis.
9. Masukkan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M ke Instrumen Deteksi Molekuler 3M dan tutup dengan rapat untuk memulai pengujian. Hasilnya akan ditampilkan setelah 75 menit, meskipun hasil positif dapat terdeteksi lebih cepat.
10. Setelah pengujian selesai, keluarkan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M dari Instrumen Deteksi Molekuler 3M dan buang tabung dengan merendamnya ke dalam larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v: v dalam air) selama 1 jam dan jauhkan dari area persiapan untuk pengujian.

PERHATIAN: Untuk meminimalkan risiko yang positif salah karena kontaminasi silang, jangan membuka tabung reagen yang berisi DNA hasil amplifikasi. Termasuk juga tabung Kontrol Reagen, Reagen dan Kontrol Matriks. Buang tabung reagen yang tersegel dengan merendamnya ke dalam larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) selama 1 jam dan jauhkan dari tempat persiapan pengujian.

HASIL DAN INTERPRETASI

Algoritma menginterpretasikan kurva keluaran cahaya yang dihasilkan dari deteksi amplifikasi asam nukleat. Hasil dianalisis secara otomatis oleh perangkat lunak dan diberi kode warna berdasarkan hasil tersebut. Hasil yang Positif atau Negatif ditentukan dari analisis sejumlah parameter kurva khusus. Hasil yang dianggap Positif dilaporkan dalam waktu nyata sedangkan hasil Negatif dan perlu Pemeriksaan akan ditampilkan setelah pengujian selesai.

Sampel yang dianggap positif harus dikonfirmasi sesuai dengan standar prosedur pengoperasian laboratorium atau dengan mematuhi metode konfirmasi rujukan yang sesuai^(1, 2, 3), dimulai dengan memindahkan dari pengaya primer hingga ke kaldu pengaya sekunder (jika sesuai), dilanjutkan dengan pengusapan dan konfirmasi isolat menggunakan metode biokimia dan serologi.

CATATAN: Bahkan sampel negatif tidak akan memberikan tampilan nol karena sistem dan amplifikasi reagen Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *Listeria monocytogenes* mempunyai "latar belakang" unit cahaya relatif (RLU).

Meskipun jarang terjadi, untuk keluaran cahaya yang tidak biasa, algoritma akan memberi label sebagai "perlu Pemeriksaan." 3M menyarankan pengguna mengulang pengujian untuk sampel yang perlu Pemeriksaan. Jika hasil tetap menunjukkan perlu Periksa, lanjutkan pada konfirmasi pengujian dengan menggunakan metode pilihan Anda atau sebagaimana ditentukan oleh peraturan setempat

Apabila Anda memiliki pertanyaan yang spesifik tentang penerapan atau prosedur, kunjungi situs web kami di www.3M.com/foodsafety atau hubungi perwakilan atau distributor 3M setempat.

REFERENSI:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8,08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

Apendiks A. Interupsi Protokol: Penyimpanan dan pengujian ulang lisat yang dipanaskan

1. Untuk menyimpan lisat yang dipanaskan, tutup ulang tabung lisis dengan penutup bersih (lihat "Lisis", 4,5).
2. Simpan pada 4 sampai 8°C sampai 72 jam.
3. Siapkan sampel yang disimpan untuk amplifikasi dengan membalik 2-3 kali untuk menyampur.
4. Lepas penutup tabung.
5. Letakkan tabung lisat campuran pada Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M dan panaskan pada suhu $100 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 5 ± 1 menit.
6. Lepaskan rak tidak tertutup tabung LS dari blok pemanasan dan biarkan dingin dalam Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M paling sedikit 5 menit dan maximum 10 menit.
7. Lanjutkan protokol pada bagian 'Amplifikasi' dijelaskan di atas.

PENJELASAN SAMPEL LABEL PRODUK



Awas atau Peringatan, lihat petunjuk produk.



Baca petunjuk produk.



Lot di dalam kotak menandakan nomor lot.



Jam pasir dicantumkan bersama bulan dan tahun yang menandakan tanggal kedaluwarsa.



Batas suhu penyimpanan.

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz - Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

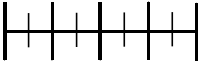
Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5

<div data-bbox="506 806 594 873" data-label="Text"> <p>dZ</p> </div> <div data-bbox="321 894 678 1113" data-label="Text"> <p>Requester: Susan Barker Creator: deZinnia_18417.3 File Name: 34871685565.indd Structure #: N/A Supersedes: N/A Date: 11/05/15</p> </div>	<div data-bbox="800 789 1081 823" data-label="Section-Header"> <p>Printed Colors – Front:</p> </div> <div data-bbox="800 835 1149 898" data-label="Image"> </div> <div data-bbox="800 909 1081 942" data-label="Section-Header"> <p>Printed Colors – Back:</p> </div> <div data-bbox="800 955 1149 1018" data-label="Image"> </div> <div data-bbox="800 1029 974 1062" data-label="Section-Header"> <p>Match Colors:</p> </div>
<div data-bbox="329 1178 753 1241" data-label="Text"> <p>Scale:  1 Inch</p> </div>	<div data-bbox="800 1152 1349 1247" data-label="Text"> <p>This artwork has been created as requested by 3M. 3M is responsible for the artwork AS APPROVED and assumes full responsibility for its correctness.</p> </div>