










## Product Instructions

-  (EN) Neogen Molecular Detection Assay 2Q - Quantitative *Salmonella* Screening Kit
-  (FR) Kit Neogen de détection moléculaire 2Q – Kit de dépistage de quantification des *Salmonella*
-  (DE) Kit Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – Salmonellen, quantitativ
-  (ES) Kit de cribado para el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen
-  (PT) Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - Kit de Triagem Quantitativa de *Salmonella*
-  (JA) Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q - サルモネラ定量検査スクリーニング キット
-  (ZH) Neogen分子检测分析2Q - 定量 沙门氏菌筛选试剂盒
-  (TH) ชุดตรวจคัดกรองชุดการทดสอบเชิงจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุล 2Q - *ซัลโมเนลลา*เชิงปริมาณของ Neogen
-  (KO) Neogen 분자 검출 분석 2Q - 정량 *살모넬라* 스크리닝 키트

Distributed by:

**NELSON JAMESON**  
INC.

800-826-8302 nelsonjameson.com



Quantitative *Salmonella*

## Product Instructions

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

## Product Description and Intended Use

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

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

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

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

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

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

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

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



**Table 1. Kit Components**

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

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

**Safety**

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

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

**WARNING**

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

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

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

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

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



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

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

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

### **To reduce the risks associated with environmental contamination:**

Follow current industry standards for disposal of contaminated waste.

#### **⚠ CAUTION**

### **To reduce the risks associated with exposure to hot liquids:**

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

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

#### **NOTICE**

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

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



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

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

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

If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at [neogen.com](http://neogen.com) or contact your local Neogen representative or authorized distributor.

## User Responsibility

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

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

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

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

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

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

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

## Limitation of Warranties / Limited Remedy

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

## Limitation of Neogen Liability

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



## Storage and Disposal

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

## Instructions for Use

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

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

The user should complete the Neogen Molecular Detection System operator qualification (OQ) training, as described in the “Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System” document <sup>(6)</sup>.

See Section “Specific Instructions for validated methods” for specific requirements:

### Quantification of *Salmonella* in raw ground chicken/turkey

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



## Quantification of *Salmonella* in chicken carcass rinses

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

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

**Table 2. General enrichment protocols.**

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

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



## Preparation of the Neogen® Molecular Detection Speed Loader Tray

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

## Preparation of the Neogen® Molecular Detection Chill Block Insert

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

## Preparation of the Neogen® Molecular Detection Heat Block Insert

Place the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert in a dry double block heater unit. Turn on the dry block heater unit and set the temperature to allow the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert to reach and maintain a temperature of  $100 \pm 1^\circ\text{C}$ .

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

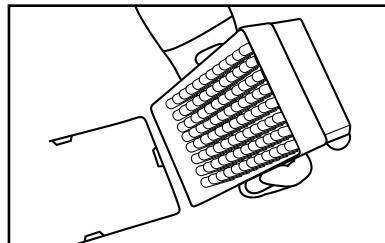
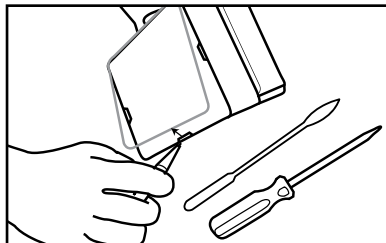
## Preparation of the Neogen Molecular Detection Instrument

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

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

## Lysis

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

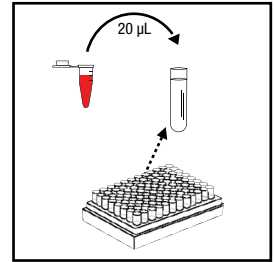
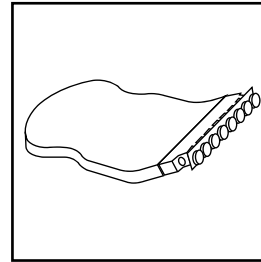
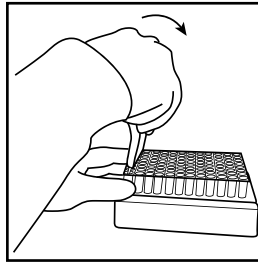
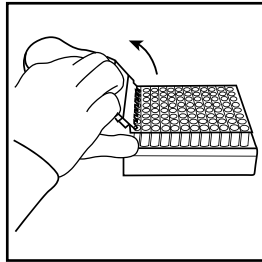
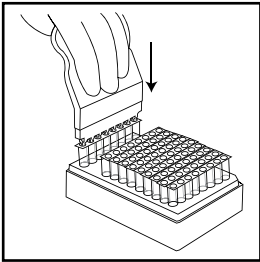




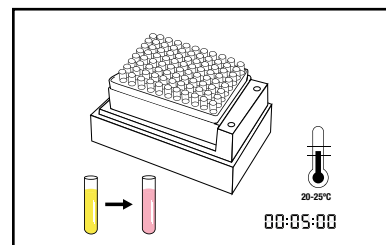
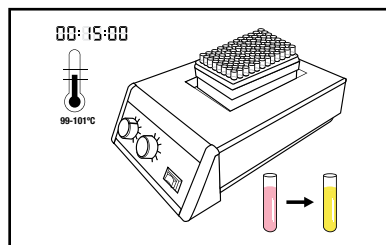
2. Allow the Lysis Solution (LS) tubes to warm up by setting the rack at room temperature (20–25 °C) overnight (16–18 hours). Alternatives to equilibrate the LS tubes to room temperature are to set the LS tubes on the laboratory bench for at least 2 hours, incubate the LS tubes in a 37 ±1°C incubator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

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

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



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



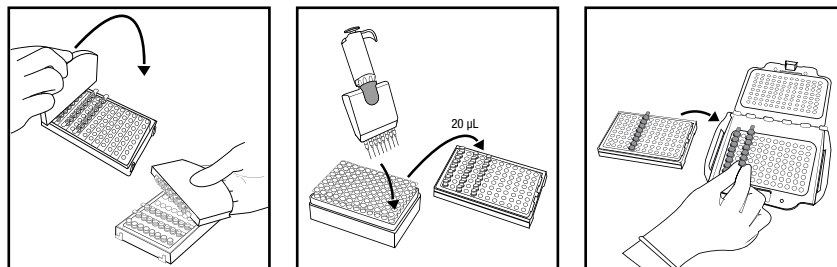


## Amplification

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

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

5. Use the Neogen Molecular Detection Cap/Decap Tool-Reagent to decap the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Reagent tubes, one Reagent tube strip at a time. Discard cap.
  - 5.1 Transfer 20  $\mu$ L of sample lysate from the upper  $\frac{1}{2}$  of the liquid (avoid precipitate) in the Neogen Lysis Solution Tube into corresponding Reagent Tube. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.
  - 5.2 Repeat step 5.1 until all individual Sample lysate has been added to a corresponding Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Reagent tube in the strip.
  - 5.3 Cover the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Reagent tubes with the provided extra caps and use the rounded side of the Neogen Molecular Detection Cap/Decap Tool-Reagent to apply pressure in a back and forth motion ensuring that the cap is tightly applied.
  - 5.4 Repeat steps 5.1 to 5.3 as needed, for the number of samples to be tested.
  - 5.5 When all sample lysates have been transferred, vortex the capped reagents tubes for 2 seconds for mixing, and then spin-down for 10 seconds in a mini-centrifuge to make sure all the liquid is at the bottom of the tube.
  - 5.6 Transfer 20  $\mu$ L of NC lysate into a Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Reagent tube and another 20  $\mu$ L of NC lysate into a RC tube. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.
6. Load capped tubes into a clean and decontaminated Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray. Close and latch the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray lid.



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



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

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

## Results and Interpretation

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

### References:

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

### Explanation of Symbols

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

**Neogen Food Safety**

**Neogen Corporation**  
620 Lesher Place  
Lansing, MI 48912 USA  
[neogen.com](https://www.neogen.com)

**Neogen Europe Ltd.**

The Dairy School  
Auchincruive  
Ayr, KA6 5HU  
Scotland, UK

**Neogen Ireland, Ltd.**

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Instructions sur les produits

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

### Description du produit et utilisation prévue

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

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

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

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

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

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

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

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

**Tableau 1. Composants du kit**

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

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

## Sécurité

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

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

### ⚠ AVERTISSEMENT

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

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

**L'utilisateur doit former son personnel aux techniques de test actuelles appropriées : par exemple, les Bonnes Pratiques de Laboratoire, ISO/IEC 17025<sup>(4)</sup> ou ISO 7218<sup>(5)</sup>.**

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

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



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

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

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

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

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

#### **⚠ ATTENTION**

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

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

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

#### **MISE EN GARDE**

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

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



## **Pour réduire les risques liés à un résultat faussement positif :**

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

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

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

### **Responsabilité de l'utilisateur**

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

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

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

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

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

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

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

### **Limitation des garanties / Recours limité**

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

### **Limitation de la responsabilité de Neogen**

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



## Stockage et mise au rebut

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

## Mode d'emploi

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

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

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

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

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

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



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

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

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

**Tableau 2. Protocoles d'enrichissement généraux.**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

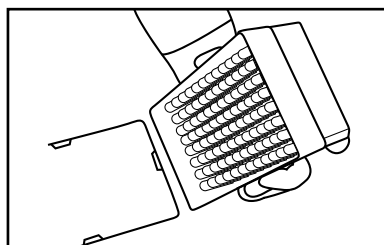
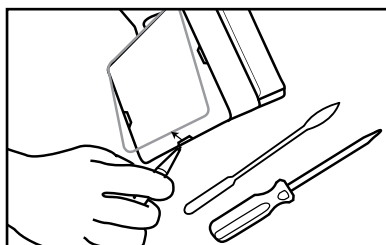
## Préparation de l'instrument de détection moléculaire de Neogen

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

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

## Lyse

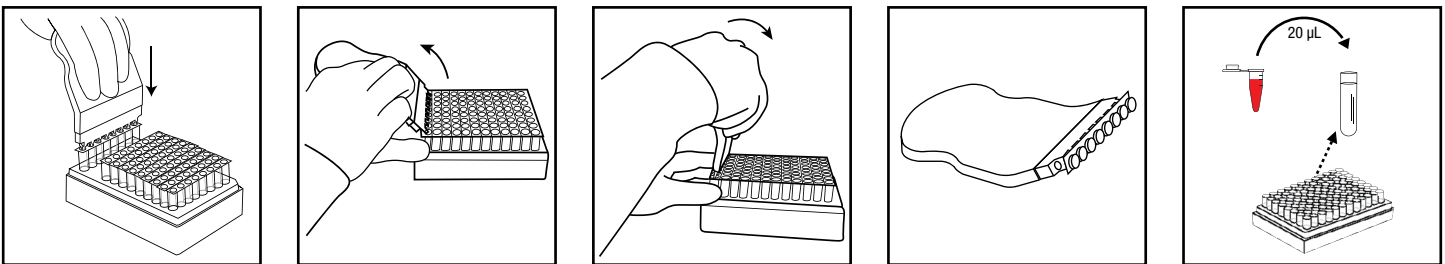
1. Retirer le fond du portoir de solution de lyse de Neogen à l'aide d'un tournevis ou d'une spatule avant de le placer dans le bloc thermique de détection moléculaire de Neogen.



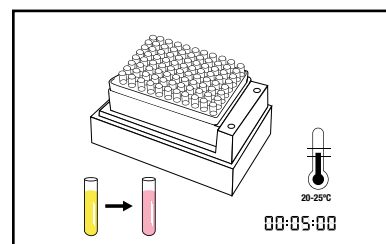
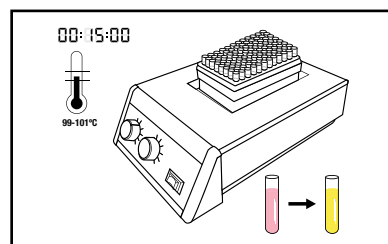
2. Laisser les tubes de la solution de lyse (LS) se réchauffer en laissant le portoir à température ambiante (20 à 25 °C) pendant la nuit (16 à 18 heures). Pour équilibrer les tubes de LS à la température ambiante, vous pouvez les placer sur la paillasse du laboratoire pendant au moins 2 heures, les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

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

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



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

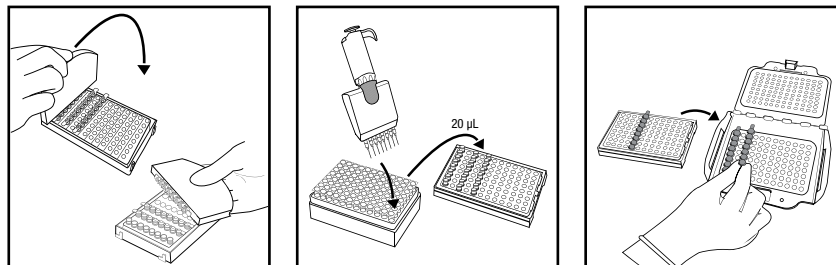


## Amplification

1. Un test Neogen de détection moléculaire 2Q pour la quantification des *Salmonella* est requis pour chaque échantillon et le NC.
  - 1.1 Les barrettes de tubes de réactif peuvent être coupées au nombre de tubes souhaité. Sélectionner le nombre de tubes de réactifs individuels ou de bandes de 8 tubes nécessaires.
  - 1.2 Placer les tubes de réactif dans un portoir vide.
  - 1.3 Éviter d'agiter les granulés de réactif au fond des tubes.
2. Sélectionner un tube de contrôle de réactif (RC) et le placer dans le portoir.
3. Pour éviter toute contamination croisée, déboucher une seule barrette de tubes de réactif à la fois et utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque étape de transfert.
4. Transférer chacun des lysats comme décrit ci-dessous :

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

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



7. Réviser l'analyse et la confirmer dans le logiciel de détection moléculaire Neogen (analyses quantitatives).
8. Cliquer sur le bouton Démarrer dans le logiciel et sélectionner l'instrument à utiliser. Le couvercle de l'instrument sélectionné s'ouvre automatiquement.
9. Placer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen dans l'instrument de détection moléculaire Neogen et fermer le couvercle pour commencer l'analyse. Les résultats sont fournis dans les 60 minutes, bien que les résultats positifs puissent être détectés plus tôt.



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

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

## Résultats et interprétation

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

### Références :

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

### Explication des symboles

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

## Sécurité alimentaire Neogen

### Neogen Corporation

620 Lesher Place  
Lansing, MI 48912 États-Unis

[neogen.com](https://www.neogen.com)

### Neogen Europe Ltd.

The Dairy School  
Auchincruive  
Ayr, KA6 5HU  
Écosse, Royaume-Uni

### Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Irlande



## Produktanweisungen

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

## Produktbeschreibung und Verwendungszweck

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

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

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

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

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

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

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

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



**Tabelle 1. Komponenten des Kits**

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

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

## Sicherheit

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

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

### **WARNUNG**

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

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

**Der Benutzer muss sein Personal in aktuellen ordnungsgemäßen Testtechniken schulen: beispielsweise Gute Laborpraxis, ISO/IEC 17025<sup>(4)</sup> oder ISO 7218<sup>(5)</sup>.**

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

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



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

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

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

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

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

 **VORSICHT**

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

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

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

**HINWEIS**

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

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



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

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

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

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

Wenn Sie Fragen zu bestimmten Anwendungen oder Verfahren haben, besuchen Sie unsere Website unter [neogen.com](http://neogen.com) oder wenden Sie sich an den Neogen-Vertriebsmitarbeiter oder autorisierten Händler vor Ort.

### **Verantwortung des Benutzers**

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

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

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

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

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

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

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

### **Beschränkte Gewährleistung/Beschränkter Rechtsbehelf**

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



## Haftungsbeschränkung für Neogen

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

## Lagerung und Entsorgung

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

## Gebrauchsanweisung

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

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

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

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

## Quantifizierung von *Salmonellen* in rohem Hühner-/Putenhackfleisch

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



## Quantifizierung von *Salmonellen* in Spülungen von Hühnerschlachtkörpern

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

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

**Tabelle 2. Allgemeine Anreicherungsprotokolle.**

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

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

## Vorbereitung des Neogen® Schnellladefachs für molekulare Detektion

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

## Vorbereitung des Neogen® Kühlblockeinsatzes für molekulare Detektion

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

## Vorbereitung des Neogen® Heizblockeinsatzes für molekulare Detektion

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

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

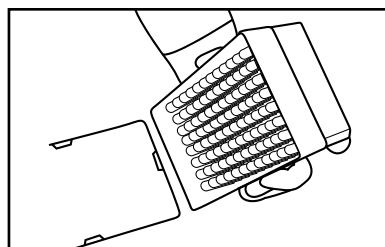
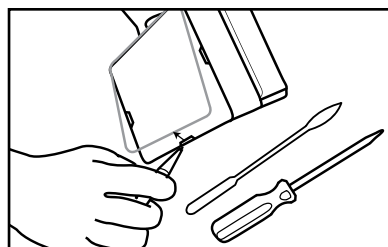
## Vorbereitung des molekularen Detektionsgeräts von Neogen

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

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

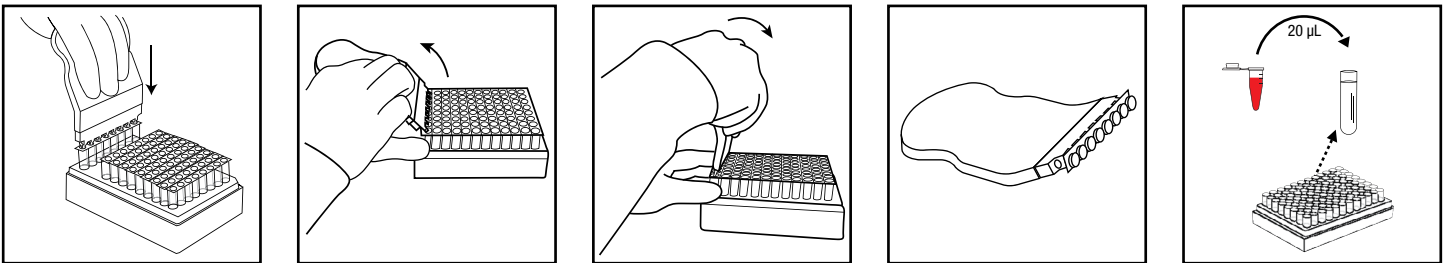
## Lyse

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

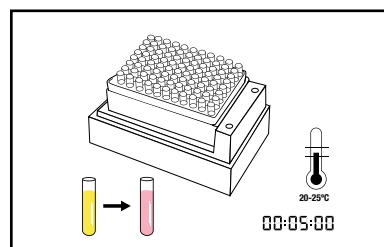
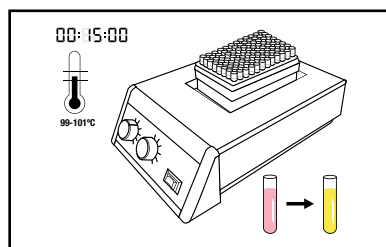


2. Fach mit Röhrchen mit Neogen Lyselösung (LS)  ber Nacht (16–18 Stunden) auf Raumtemperatur (20–25  C) aufwärmen lassen. Alternative Möglichkeiten zur Temperaturangleichung der LS-Röhrchen: LS-Röhrchen auf die Laborwerkbank stellen und mindestens 2 Stunden belassen, LS-Röhrchen in einem Inkubator bei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

 bertragen Sie **zunächst** 50 Öl **jeder resuspendierten Pelletprobe in ein einzelnes LS-Röhrchen**.  berf hren Sie die **NC** zuletzt.



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

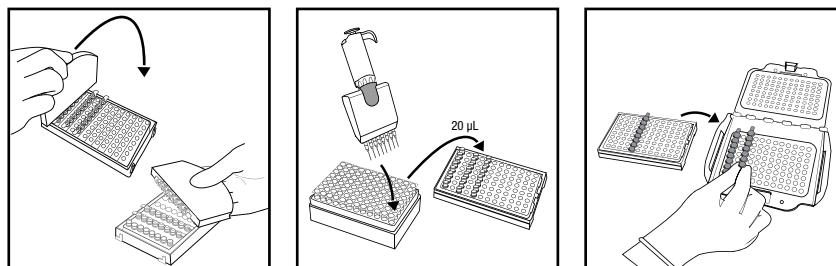


## Amplifikation

1. Für jede Probe sowie die NC ist ein Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ erforderlich.
  - 1.1 Reagenzröhrchenstreifen können auf die gewünschte Anzahl an Röhrchen zugeschnitten werden. Erforderliche Anzahl einzelner Reagenzröhrchen oder -streifen zu 8 Röhrchen auswählen.
  - 1.2 Legen Sie die Reagenzröhrchen in ein leeres Gestell.
  - 1.3 Die Reagenz-Pellets unten in den Röhrchen nicht in Bewegung bringen.
2. Ein Röhrchen mit Reagenzkontrolle (RC) auswählen und im Gestell platzieren.
3. Um Kreuzkontaminationen zu vermeiden, immer nur einen Reagenzröhrchenstreifen öffnen und für jeden Transferschritt eine neue Pipettenspitze verwenden.
4. Übertragen Sie jedes der Lysate wie unten beschrieben:

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

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



7. Den konfigurierten Durchgang in der Neogen-Software für molekulare Detektion (quantitative Tests) prüfen und bestätigen.
8. In der Software auf die Schaltfläche „Start“ klicken und das zu verwendende Gerät auswählen. Die Klappe des ausgewählten Geräts öffnet sich automatisch.



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

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

## Ergebnisse und Interpretation

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

### Literatur:

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

## Erklärung der Symbole

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

**Neogen Food Safety**

**Neogen Corporation**  
620 Lesher Place  
Lansing, MI 48912 USA  
[neogen.com](https://www.neogen.com)

**Neogen Europe Ltd.**

The Dairy School  
Auchincruive  
Ayr, KA6 5HU  
Schottland, UK

**Neogen Ireland, Ltd.**

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Irland



## Instrucciones del producto

# Kit de cribado para el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen

### Descripción del producto y uso previsto

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

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

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

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

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

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

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

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

**Tabla 1. Componentes del kit**

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

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

## Seguridad

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

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

### ADVERTENCIA

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

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

**El usuario debe capacitar a su personal en técnicas de prueba adecuadas actuales: por ejemplo, buenas prácticas de laboratorio, ISO/IEC 17025<sup>(4)</sup> o ISO 7218<sup>(5)</sup>.**

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

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



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

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

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

### **Para reducir los riesgos asociados con la contaminación ambiental:**

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

#### **⚠ PRECAUCIÓN**

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

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

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

#### **AVISO**

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

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



## Para reducir los riesgos asociados con un resultado falso positivo:

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

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

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

## Responsabilidad del usuario

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

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

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

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

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

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

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

## Limitación de garantías / Recurso limitado

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

## Limitación de responsabilidad de Neogen

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



## Almacenamiento y desecho

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

## Instrucciones de uso

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

**Tabla 2. Protocolos generales de enriquecimiento.**

Matriz de muestra	Tamaño de muestra	Homogeneización (primer paso)	Enriquecimiento	Temp. de enriquecimiento	Tiempo de enriquecimiento	Resuspensión del material particulado	Volumen de análisis de muestras <sup>(a)</sup>
Carne molida de pollo cruda	325 g	400 ml BPW	30 ml de homogeneizado + 30 ml de QRED	42 °C, ±1 °C	6 horas	300 µL	50 µL
Carne molida de pavo cruda	325 g	400 ml BPW	30 ml de homogeneizado + 30 ml de QRED	42 °C, ±1 °C	5 horas	300 µL	50 µL
Solución de enjuague de caparazón de pollo	30 ml	400 ml nBPW	30 ml de la solución de enjuague nBPW + 30 ml de QRED	42 °C, ±1 °C	6 horas	100 µL	50 µL
Solución de enjuague de caparazón de pollo	30 ml	400 ml BPW	30 ml de la solución de enjuague + 30 ml de QRED	42 °C, ±1 °C	5 horas	100 µL	50 µL

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

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

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

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

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

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

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

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

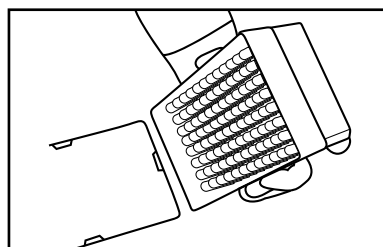
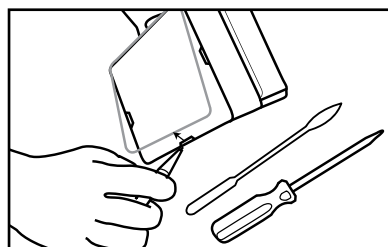
## Preparación del instrumento de detección molecular de Neogen

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

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

## Lisis

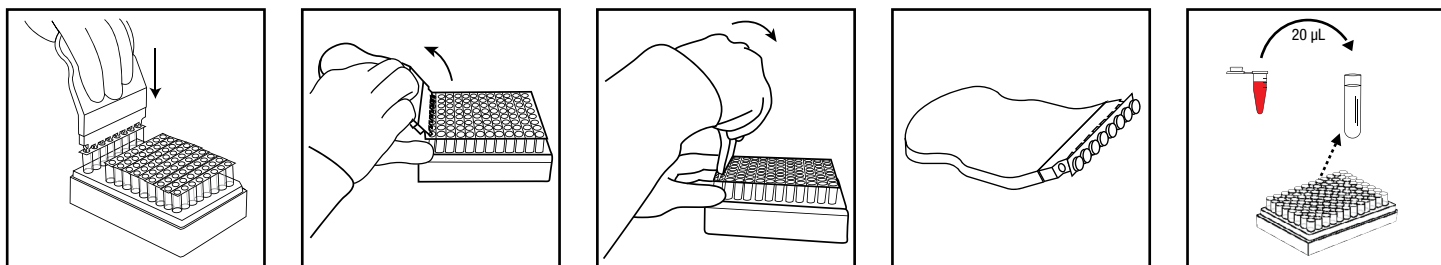
1. Retire la parte inferior de la gradilla de solución de lisis (Lysis Solution, LS) de Neogen con un destornillador o una espátula antes de colocarla en el inserto de bloque de calor de detección molecular de Neogen.



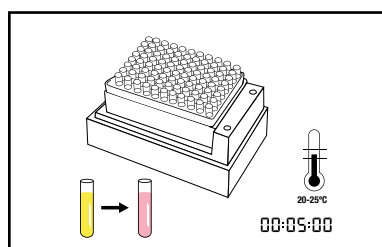
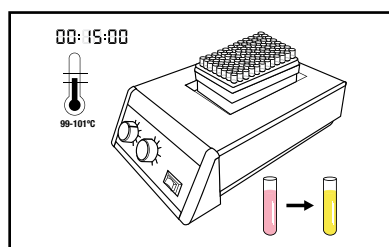
2. Deje que los tubos de la LS de Neogen se calienten. Para ello, colóquelos en una rejilla a temperatura ambiente (entre 20 °C y 25 °C) durante la noche (entre 16 y 18 horas). Las alternativas para equilibrar los tubos de LS a temperatura ambiente consisten en poner los tubos sobre un banco de laboratorio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

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

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



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

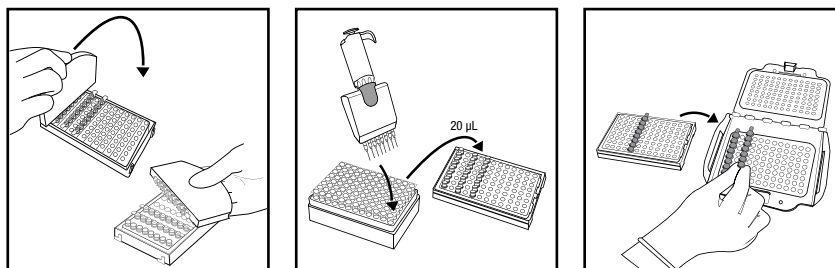


## Amplificación

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

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

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



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



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

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

## Resultados e interpretación

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

## Referencias:

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

## Explicación de los símbolos

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

**Neogen Food Safety**

**Neogen Corporation**

620 Lesher Place  
Lansing, MI 48912 EE. UU.

[neogen.com](https://neogen.com)

**Neogen Europe Ltd.**

The Dairy School  
Auchincruive  
Ayr, KA6 5HU  
Escocia, Reino Unido

**Neogen Ireland, Ltd.**

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Irlanda

