




- 
-  **(EN)** **Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium screening kit**
  -  **(ES)** **Ensayo de Detección Molecular 2 - Kit de detección de *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium**
  -  **(PT)** **Ensaio de Detecção Molecular 2 – Kit de detecção de *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium**

2

## Product Instructions

# Neogen® Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium screening kit

### Product Description and Intended Use

The Neogen® Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium kit is used with the Neogen® Molecular Detection System for rapid and specific detection of two *Salmonella* subtypes, *Salmonella* enterica subsp. *enterica* serotype Enteritidis (SE) and *Salmonella* enterica subsp. *enterica* serotype Typhimurium (including monophasic variants (ST)), in enriched poultry and poultry-related samples. The screening kit contains two separate reagent tubes, one to detect SE serotype strains and the other to detect ST serotype strains. The Neogen® Molecular Detection System Software reports results separately for each of the assays.

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 while negative results are displayed after the assay is completed. Presumptive positive results should be confirmed using your preferred method or as specified by local regulations<sup>(1, 2, 3)</sup>.

The Neogen® Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium is intended for use in a laboratory environment by professionals trained in laboratory techniques. Neogen has not documented the use of this product in industries other than food or beverage. For example, Neogen has not documented this product for testing pharmaceutical, cosmetics, clinical or veterinary samples. The Neogen® Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium 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 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium with Buffered Peptone Water<sup>(1,2)</sup> and Buffered Peptone Water ISO<sup>(3)</sup>.

The Neogen® Molecular Detection Instrument is intended for use with samples that have undergone heat treatment during the assay lysis step, which is designed to destroy organisms present in the sample. Samples that have not been properly heat treated during the assay lysis step may be considered a potential biohazard and should NOT be inserted into the Neogen Molecular Detection Instrument.

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

The Neogen® Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium test kit contains 48 tests of each of SE and ST reagents, described in Table 1.

**Table 1. Kit Components**

Item	Identification	Quantity	Contents	Comments
Lysis Solution (LS) tubes	Pink solution in clear tubes	96 (12 strips of 8 tubes)	580 µL of LS per tube	Racked and ready to use
<i>Salmonella</i> Enteritidis (SE) Reagent tubes	Beige tubes	48 (2 pouches; each containing 3 strips of 8 tubes)	Lyophilized specific amplification and detection mix	Ready to use
<i>Salmonella</i> Typhimurium (ST) Reagent tubes	Grey tubes	48 (2 pouches; each containing 3 strips of 8 tubes)	Lyophilized specific amplification and detection mix	Ready to use
Extra caps	Beige caps	96 (12 strips of 8 caps)		Ready to use
Extra caps	Grey 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 or BPW ISO. 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 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium. Retain the safety instructions for future reference.

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

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

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

**⚠ WARNING**

**Do not use the Neogen® Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium 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 false-negative result leading to the release of contaminated product:**

- Follow the protocol and perform the tests exactly as stated in the product instructions.
- Store the Neogen® Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium as indicated on the package and in the product instructions.
- Always use the Neogen® Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium by the expiration date.
- Use the Neogen Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium with foods that have been validated internally or by a third party.

**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. 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 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 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.

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

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

**User Responsibility**

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

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

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

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

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

To help customers evaluate the method for various food matrices, Neogen has developed the Neogen® Molecular Detection Matrix Control kit. When needed, use the Matrix Control (MC) to determine if the matrix has the ability to impact the Neogen Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium 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 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium 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 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium past the expiration date. Expiration date and lot number are noted on the outside label of the box. After use, the enrichment medium and the Neogen® Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium tubes can potentially contain pathogenic materials. When testing is complete, follow current industry standards for the disposal of contaminated waste. Consult the Safety Data Sheet for additional information and local regulations for disposal.

## Instructions for Use

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

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

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

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

Table 3 for enrichment protocols according to AOAC® Performance Tested<sup>SM</sup> Certificate #122302.

### Sample Enrichment

Tables 2 or 3 present guidance for enrichment protocols for poultry and poultry-related samples. It is the user’s responsibility to validate alternate sampling protocols or dilution ratios to ensure this test method meets the user’s criteria.

### Foods

1. Allow BPW or BPW ISO enrichment medium to equilibrate to ambient laboratory temperature. See Table 2 or 3.
2. Aseptically combine the enrichment medium and sample. For all meat and highly particulate samples, the use of filter bags is recommended.
3. Homogenize thoroughly by blending, stomaching, or hand mixing for 2 ±0.2 minutes until the enrichment suspension is homogeneous<sup>(7,8)</sup>. For all meat and highly particulate samples, the use of filter bags is recommended. Incubate as outlined in the appropriate protocol table (see Table 2 or 3).

**Table 2.** General enrichment protocols.

Sample Matrix	Sample Size	Enrichment Broth Volume	Enrichment Temperature	Enrichment Time (hr)	Sample Analysis Volume <sup>(a)</sup>
Raw ground chicken	325 g	1625 mL BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Chicken rinse (400 mL nBPW)	30 mL	30 mL BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Raw ground chicken	25 g	225 mL BPW ISO	41.5 ± 1 °C	18 - 24	20 µL
Cooked breaded chicken (chicken nuggets)	25 g	225 mL BPW ISO	37 ± 1 °C	18 - 24	20 µL

(a) Volume of sample transferred to Lysis Solution tubes. Refer to step 5.6 of Lysis section.

### Specific Instructions for Validated Methods

AOAC® Performance Tested<sup>SM</sup> Certificate #122302



In the AOAC Research Institute PTM<sup>SM</sup> program, the Neogen Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium was found to be an effective method for the detection of two *Salmonella* subtypes, *Salmonella* enterica subsp. *enterica* serotype Enteritidis (SE) and *Salmonella* enterica subsp. *enterica* serotype Typhimurium (including monophasic variant 1,4,[5],12;i:-) (ST). The matrices tested in the study are shown in Table 3.

**Table 3.** Enrichment protocols according AOAC PTM<sup>SM</sup> Certificate #122302.

Sample Matrix	Sample Size	Enrichment Broth Volume	Enrichment Temperature	Enrichment Time (hr)	Sample Analysis Volume <sup>(a)</sup>
Raw ground chicken	325 g	1625 mL BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Chicken rinse (400 mL nBPW)	30 mL	30 mL BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Raw ground chicken	25 g	225 mL BPW ISO	41.5 ± 1 °C	18 - 24	20 µL
Cooked breaded chicken (chicken nuggets)	25 g	225 mL BPW ISO	37 ± 1 °C	18 - 24	20 µL

(a) Volume of sample transferred to Lysis Solution tubes. Refer to step 5.6 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: The Neogen Molecular Detection Chill Block Tray is not used. Use the block at ambient laboratory temperature (20-25°C).

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

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

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

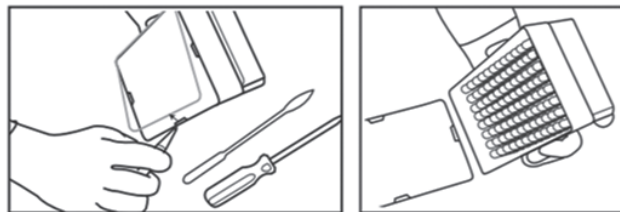
**Preparation of the Neogen® Molecular Detection Instrument**

1. Launch the Neogen® Molecular Detection Software and log in. Contact your Neogen Food Safety representative to ensure you have the most updated version of the software.
2. Turn on the Neogen Molecular Detection Instrument.
3. Create or edit a run with data for each sample. Refer to the Neogen Molecular Detection System User Manual for details.
  - 3.1. For the run of the SE and ST assays, select the icon for each assay in the software to run the assays for each sample.
  - 3.2. The SE and ST assays can also be run separately for each sample.
  - 3.3. NC is set up for each of the reagent tubes and one RC is set up for the kit.

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

**Lysis**

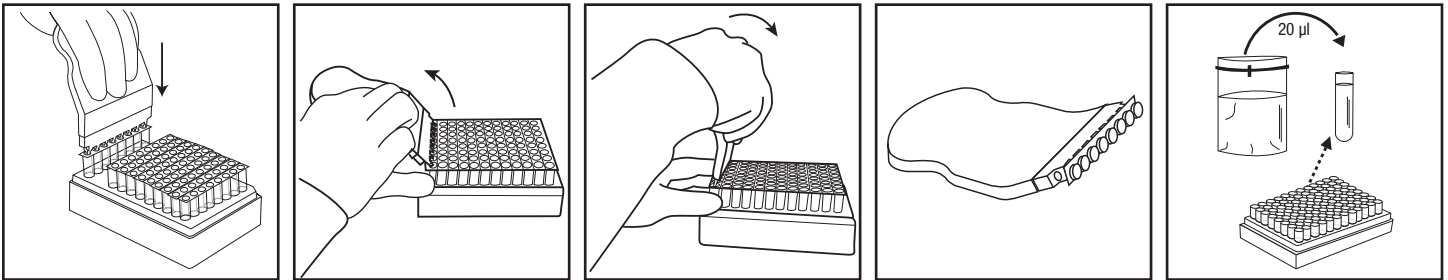
1. Remove the bottom of Neogen Lysis Solution Rack with a screwdriver or spatula before placing it in the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert.



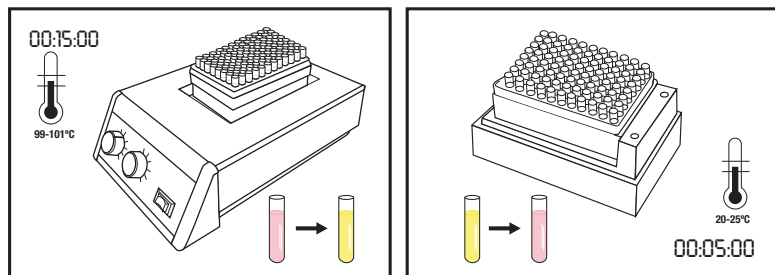
2. Allow the LS tubes to warm up by setting the rack at room temperature (20-25 °C) overnight (16-18 hours). Alternatives to equilibrate the LS tubes to room temperature are to set the LS tubes on the laboratory bench for at least 2 hours, incubate the LS tubes in a 37 ±1°C incubator for 1 hour or place 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. Remove the enrichment broth from the incubator.
5. One LS tube is required for each sample and the Negative Control (NC) sample (sterile enrichment medium).
  - 5.1 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.
  - 5.2 To avoid cross-contamination, decap one LS tubes strip at a time and use a new pipette tip for each transfer step.
  - 5.3 Transfer enriched sample to LS tubes as described below:

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

- 5.4 Use the Neogen® Molecular Detection Cap/Decap Tool-Lysis to decap one LS tube strip – one strip at a time.
- 5.5 Discard the LS tube cap – If lysate will be retained for retest, place the caps into a clean container for re-application after lysis.
- 5.5.1 For processing of retained lysate, see Appendix A.
- 5.6 Transfer 20 µL of sample into a LS tube unless otherwise indicated in the protocol table.
6. Repeat step 5.2 until each individual sample has been added to a corresponding LS tube in the strip.



7. Repeat steps 5.1 to 5.6 as needed, for the number of samples to be tested.
8. When all samples have been transferred, transfer 20 µL of NC (sterile enrichment medium e.g., BPW) into a LS tube. Do not use water as a NC.
9. Verify that the temperature of the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert is at 100 ±1°C.
10. 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.
11. 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.
12. Remove the rack of LS tubes from the Neogen Molecular Detection Chill Block Insert.

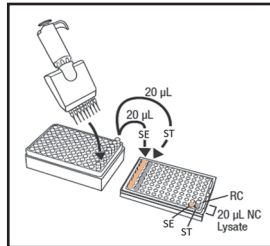


### Amplification

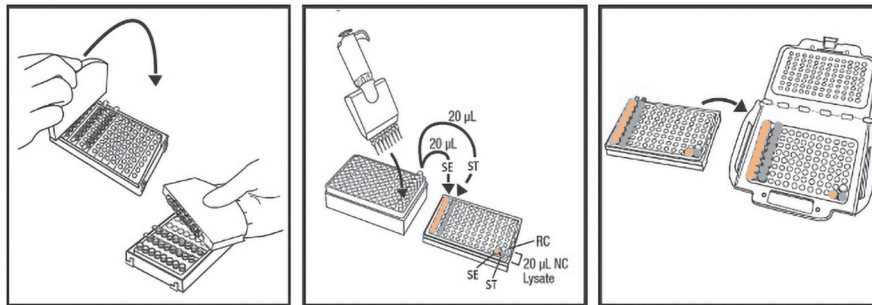
1. One Neogen Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis (SE) and one Neogen Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Typhimurium (ST) are required for each sample and the NC.
  - 1.1 The SE and ST assays can be run in the same rack for each sample, or they can be run in a separate rack.
  - 1.2 Reagent tube strips can be cut to desired tube number. Select the number of individual Reagent tubes or 8-tube strips needed.
  - 1.3 Place SE tubes in an empty rack in one column
  - 1.4 Place ST tubes in the adjacent right column
  - 1.5 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. For NC lysate, select one SE Reagent Tube and one ST Reagent Tube and place in the same rack, if both serotypes are running together, or in separate racks, if running them separate.
4. To avoid cross-contamination, decap one Reagent Tube strip at a time and use a new pipette tip for each transfer step.
5. Transfer each of the lysates to a SE and ST Reagent Tube as described below.
  - 5.1 First, transfer each sample lysate to a SE Reagent Tube as described in 5.5 and 5.6.
  - 5.2 Second, transfer each of the same sample lysate to a ST Reagent Tube in the adjacent right column as described in 5.5 and 5.6.

**NOTE: Use new pipette tip for each transfer. Do not use same pipette tip for transfer to SE and ST reagent tubes from the same lysate sample.**

- 5.3 After all sample lysate transfer, add NC lysate to each of SE and ST Reagent Tube.
- 5.4 Transfer NC lysate last to Reagent Control Tube.
- 5.5 Use the Neogen® Molecular Detection Cap/Decap Tool-Reagent to decap the SE and ST Reagent tubes –one Reagent tube strip at a time. Discard cap.
- 5.6 **Transfer 20 µL of sample lysate from the upper ½ of the liquid (avoid precipitate) in the Neogen Lysis Solution Tube into corresponding SE and ST Reagent Tube. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.**



- 5.7 Repeat step 5.6 until all individual Sample lysate has been added to a corresponding SE and ST Reagent tubes in the strip.
  - 5.8 Cover the 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.
  - 5.9 Repeat steps 5.6 to 5.8 as needed, for the number of samples to be tested for both SE and ST Reagent Tubes.
  - 5.10 When all sample lysates have been transferred, repeat 5.6 to 5.8 to transfer 20 µL of NC lysate into each SE and ST Reagent tube.
  - 5.11 Transfer **20 µL of NC lysate into a RC tube**. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.
6. Load capped tubes into a clean and decontaminated Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray. Close and latch the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray lid.



- 7. Review and confirm the configured run in the Neogen Molecular Detection Software.
- 8. Click the Start button in the software and select instrument for use. The selected instrument’s lid automatically opens.
- 9. Place the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray into the Neogen Molecular Detection Instrument and close the lid to start the assay. Results are provided within 60 minutes, although positives may be detected sooner.
- 10. After the assay is complete, remove the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray from the Neogen Molecular Detection Instrument and dispose of the tubes by soaking in a 1-5% (v:v in water) household bleach solution for 1 hour and away from the assay preparation area.

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

**Results and Interpretation**

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





The Neogen Molecular Detection System Software reports results separately for each of the assays (SE and ST).

Presumptive positive samples should be confirmed as per the laboratory standard operating procedures or by following the appropriate reference method confirmation, beginning with transfer from the primary enrichment to secondary enrichment broth(s), followed by subsequent plating and confirmation of isolates using appropriate biochemical and serological methods.

**NOTE:** Even a negative sample will not give a zero reading as the system and Neogen Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Enteritidis / *Salmonella* Typhimurium amplification reagents have a “background” relative light unit (RLU) reading.

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

### 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 stuffs – General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Contact your Neogen Food Safety representative to obtain a copy of this document.
7. ISO 6887-1:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
8. ISO 6887-2:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products.

### Explanation of Symbols

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

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

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

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.

All other trademarks are the property of their respective companies.

FS00666A

## Instrucciones del producto

# Ensayo de Detección Molecular 2 Neogen® - Kit de detección de *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium

### Descripción del producto y uso previsto

El ensayo de Detección Molecular 2 Neogen® – kit de *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium se usa con el sistema de Detección Molecular Neogen® para la detección rápida y específica de dos subtipos de *Salmonella*, *Salmonella* enterica subsp. *enterica* serotipo Enteritidis (SE) y *Salmonella* enterica subsp. *enterica* serotipo Typhimurium (incluidas las variantes monofásicas (ST), en muestras enriquecidas avícolas y avícolas-relacionadas. El kit de detección contiene dos tubos de reactivos separados, uno para detectar cepas del serotipo SE y el otro para detectar cepas del serotipo ST. El software de Detección Molecular de Neogen® informa resultados por separado para cada uno de los ensayos.

Los ensayos usan amplificación isotérmica tipo LAMP (por sus siglas en inglés) para amplificar rápidamente secuencias de ácido nucleico con alta especificidad y sensibilidad, combinados con bioluminiscencia para detectar la amplificación. Los resultados presuntamente positivos se reportan en tiempo real, mientras que los resultados negativos se revelan una vez finalizado el ensayo. Los resultados presuntamente positivos se deben confirmar mediante su método de preferencia o según lo especifiquen las regulaciones locales<sup>(1,2,3)</sup>.

El ensayo de Detección Molecular 2 de Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium 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 o veterinarias. El ensayo de Detección Molecular 2 de Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium no se ha evaluado con todos los posibles productos alimenticios, procesos o protocolos de prueba, ni con todas las cepas posibles de bacteria. **Al igual que con todos los métodos de prueba, el origen, la formulación y la calidad del medio de enriquecimiento pueden influir en los resultados.** Factores como los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio también pueden influir en los resultados. Neogen recomienda la evaluación del método incluido el medio de enriquecimiento en el entorno del usuario usando un número suficiente de muestras con alimentos particulares y desafíos microbianos a fin de garantizar que el método cumple con los criterios del usuario.

Neogen ha evaluado el ensayo de Detección Molecular 2 Neogen – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium con Agua Peptonada Tamponada<sup>(1,2)</sup> y Agua Peptonada Tamponada ISO<sup>(3)</sup>.

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

El ensayo de Detección Molecular 2 Neogen® – kit de prueba para *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium contiene 48 pruebas de cada reactivo para SE y ST, descritos en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Componentes del kit

Artículo	Identificación	Cantidad	Contenido	Comentarios
Tubos de solución de lisis (LS)	Solución rosada en tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µL de LS por tubo	Separado y listo para usar
Tubos de reactivos para <i>Salmonella</i> Enteritidis (SE)	Tubos beige	48 (2 sobres; cada uno contiene 3 tiras de 8 tubos)	Mezcla para amplificación y detección específica liofilizada	Listo para usar
Tubos de reactivos para <i>Salmonella</i> Typhimurium (ST)	Tubos grises	48 (2 sobres; cada uno contiene 3 tiras de 8 tubos)	Mezcla para amplificación y detección específica liofilizada	Listo para usar
Tapas adicionales	Tapas beige	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listo para usar
Tapas adicionales	Tapas grises	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 provee en el kit, es un medio de enriquecimiento estéril, p. ej. BPW o BPW ISO. No use agua como control negativo.

## Seguridad

El usuario debe leer, comprender y seguir toda la información de seguridad que figura en las instrucciones para el sistema de Detección Molecular de Neogen® y el ensayo de Detección Molecular 2 Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium. Conserve las instrucciones de seguridad para referencias futuras.

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

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

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

### ⚠ ADVERTENCIA

**No use el ensayo de Detección Molecular 2 de Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium en el diagnóstico de condiciones en seres 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>.**

**Para reducir los riesgos asociados con un resultado falso negativo que produce la liberación de producto contaminado:**

- Siga el protocolo y realice las pruebas exactamente como se indique en las instrucciones del producto.
- Almacene el ensayo de Detección Molecular 2 de Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium según se indica en el paquete y en las instrucciones del producto.
- Siempre use el ensayo de Detección Molecular 2 de Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium por fecha de vencimiento.
- Use el ensayo de Detección Molecular 2 de Neogen – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium con alimentos que se hayan validado internamente o mediante un tercero.

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

- Realice pruebas de patógenos en un laboratorio debidamente equipado bajo el control de personal capacitado. Los medios de enriquecimiento incubados y los equipos o superficies que han entrado en contacto con dichos medios pueden contener patógenos en niveles suficientes para causar riesgos para la salud humana.
- Este procedimiento utiliza o detecta microorganismos patógenos y/o sus productos metabólicos. 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 la introducción 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 exceda el tiempo de calentamiento recomendado.
- Use un termómetro calibrado adecuado para verificar la temperatura del inserto del Bloque de Calentamiento para el Sistema de 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 el Sistema de 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 biología molecular con barrera de aerosol (con filtro) estéril.
- Use una punta de pipeta nueva para cada transferencia de muestra.
- Use las Buenas Prácticas de Laboratorio para transferir la muestra de enriquecimiento al tubo de lisis. Para evitar la contaminación de la pipeta, el usuario puede optar por añadir un paso de transferencia intermedio. Por ejemplo, el usuario puede transferir cada calidad para muestra enriquecida a un tubo estéril.
- Use una estación de trabajo de calidad para biología molecular con lámpara germicida cuando esté disponible. Descontamine periódicamente mesas y equipo de laboratorio (pipetas, herramientas para tapar/destapar, etc.) con una solución de cloro de uso doméstico al 1-5 % (v:v en agua) o solución para eliminación de ADN.

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

- Nunca abra los tubos después de la amplificación.
  - Siempre deseche los tubos contaminados sumergiéndolos en una solución de cloro de uso doméstico al 1-5 % (v:v en agua) durante 1 hora y alejado del área de preparación del ensayo.
  - Nunca ponga en el autoclave a los tubos de reactivos después de la amplificación.
- Consulte la ficha de datos de seguridad para obtener información adicional y conocer las regulaciones locales para el desecho.

Si tiene preguntas sobre aplicaciones o procedimientos específicos, visite nuestro sitio web en [www.neogen.com/foodsafety](http://www.neogen.com/foodsafety) o comuníquese con su representante o distribuidor local de Neogen.

### Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones y la información del producto. Visite nuestro sitio web en [www.neogen.com/foodsafety](http://www.neogen.com/foodsafety) o comuníquese con su representante o distribuidor local de Neogen para obtener más información.

Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que hay factores externos como los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de muestras, el manejo, la técnica de laboratorio y la muestra en sí que pueden influir en los resultados.

Al seleccionar cualquier método de prueba o producto, es responsabilidad del usuario evaluar una cantidad suficiente de muestras con retos microbianos y matrices adecuadas para satisfacerlo en cuanto a que el método de prueba elegido cumple con 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 (MC) para determinar si la matriz tiene la capacidad de afectar los resultados del ensayo de Detección Molecular 2 de Neogen – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium. 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

Almacene el ensayo de Detección Molecular 2 de Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium a 2-8 °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 a 2-8 °C durante no más de 60 días. No use el ensayo de Detección Molecular 2 de Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium después de su fecha de vencimiento. La fecha de vencimiento y el número de lote se indican en la etiqueta exterior de la caja. Luego de usar, el medio de enriquecimiento y los tubos del ensayo de Detección Molecular 2 de Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium pueden contener potencialmente materiales patogénicos. Una vez finalizadas las pruebas, siga los estándares actuales de la industria para la eliminación de desechos contaminados. Consulte la ficha de datos de seguridad para obtener información adicional y conocer las regulaciones locales para el desecho.

## Instrucciones de uso

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

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

El usuario debería completar la capacitación de calificación de operador (OQ) del Sistema de Detección Molecular de Neogen®, según se describe en el documento “Protocolos de Calificación para la Instalación (IQ)/Calificación Operativa (OQ) para el Sistema de Detección Molecular de Neogen”<sup>(6)</sup>.

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

Tabla 3 para protocolos de enriquecimiento de acuerdo con el certificado N.º 122302 de AOAC® Performance Tested<sup>SM</sup>.

### Enriquecimiento de muestras

En las Tablas 2 o 3, se presenta orientación para los protocolos de enriquecimiento de muestras avícolas o de muestras avícolas-relacionadas. 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.

### Alimentos

1. Deje que el medio de enriquecimiento BPW o BPW ISO se equilibre con la temperatura ambiente del laboratorio. Ver Tabla 2 o 3.
2. Combine asépticamente el medio de enriquecimiento y la muestra. Para todas las muestras con alto contenido de partículas y carne, se recomienda el uso de bolsas con filtro.
3. Homogenice completamente en homogenizador peristáltico o licuadora, o bien mezcle la preparación manualmente durante  $2 \pm 0.2$  minutos hasta que la suspensión de enriquecimiento sea homogénea.<sup>(7,8)</sup> Para todas las muestras con alto contenido de partículas y carne, se recomienda el uso de bolsas con filtro. Incube como se indica en la tabla de protocolos correspondiente (ver Tabla 2 o 3).

**Tabla 2.** Protocolos de enriquecimiento general.

Matriz de muestra	Tamaño de muestra	Volumen de caldo de enriquecimiento	Temperatura de enriquecimiento	Tiempo de enriquecimiento (h)	Volumen de análisis de muestras <sup>(a)</sup>
Carne de ave molida cruda	325 g	1625 ml BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Enjuague de carcasa de ave (400 ml de nBPW)	30 ml	30 ml BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Carne de ave molida cruda	25 g	225 ml BPW ISO	41.5 ± 1 °C	18 - 24	20 µL
Carne de ave empanada cocida (nuggets de pollo)	25 g	225 ml BPW ISO	37 ± 1 °C	18 - 24	20 µL

(a) Volumen de muestra transferida a tubos de solución de lisis. Consulte el paso 5.6 de la sección Lisis.

## Instrucciones específicas para métodos validados

Certificado N.º 122302 de AOAC® Performance Tested<sup>SM</sup>



En el programa del AOAC Research Institute PTM<sup>SM</sup>, el ensayo de detección molecular 2 de Neogen – kit para *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium se descubrió que es un método eficaz para la detección de dos subtipos de *Salmonella*, *Salmonella* enterica subsp. *enterica* serotipo Enteritidis (SE) y *Salmonella* enterica subsp. *enterica* serotipo Typhimurium (incluida la variante monofásica 1,4,[5],12;i:-) (ST). En la tabla 3, se muestran las matrices que se probaron en el estudio.

**Tabla 3.** Protocolos de enriquecimiento de acuerdo con el certificado N.º 122302 de AOAC PTM<sup>SM</sup>.

Matriz de muestra	Tamaño de muestra	Volumen de caldo de enriquecimiento	Temperatura de enriquecimiento	Tiempo de enriquecimiento (h)	Volumen de análisis de muestras <sup>(a)</sup>
Carne de ave molida cruda	325 g	1625 ml BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Enjuague de carcasa de ave (400 ml de nBPW)	30 ml	30 ml BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Carne de ave molida cruda	25 g	225 ml BPW ISO	41.5 ± 1 °C	18 - 24	20 µL
Carne de ave empanada cocida (nuggets de pollo)	25 g	225 ml BPW ISO	37 ± 1 °C	18 - 24	20 µL

(a) Volumen de muestra transferida a tubos de solución de lisis. Consulte el paso 5.6 de la sección Lisis.

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

1. Humedezca un paño o una toalla descartable con una solución de cloro de uso doméstico al 1-5 % (v:v en agua) y enjuague la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular de Neogen.
2. Enjuague con agua la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular de Neogen.
3. Use una toalla descartable para secar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular de Neogen.
4. Asegúrese de que la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular de Neogen esté seca antes de usarla.

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

Coloque el Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular de Neogen directamente sobre una mesa de laboratorio: no se utiliza la bandeja de Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular de Neogen. Utilice el bloque a temperatura ambiente del laboratorio (20-25 °C).

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

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

**NOTA:** Según la unidad de calentamiento, espere aproximadamente 30 minutos para que el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 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 Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular de Neogen esté a 100 ± 1 °C.

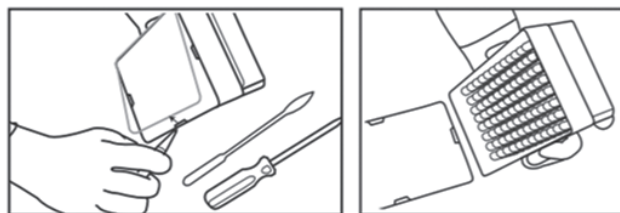
**Preparación del Equipo de Detección Molecular de Neogen®**

1. Inicie el software de Detección Molecular de Neogen® e inicie sesión. Comuníquese con su representante de Neogen Food Safety a fin de garantizar que tenga la versión más actualizada del software.
2. Encienda el Equipo de Detección Molecular de Neogen.
3. Cree o edite una ejecución con datos para cada muestra. Consulte el Manual del Usuario del Sistema de Detección Molecular de Neogen para obtener más detalles.
  - 3.1. Para la ejecución de los ensayos de SE y ST, seleccione el ícono de cada ensayo en el software para ejecutar los ensayos de cada muestra.
  - 3.2. Los ensayos de SE y ST también se pueden realizar por separado para cada muestra.
  - 3.3. Se configura NC para cada uno de los tubos de reactivo y se configura un RC para el kit.

**NOTA:** El Equipo 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 aproximadamente 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 para Solución de Lisis Neogen con un destornillador o una espátula antes de colocarla en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular de Neogen.



2. Deje que los tubos de LS se calienten colocando la gradilla a temperatura ambiente (20-25 °C) durante la noche (entre 16 y 18 horas). Las alternativas para equilibrar los tubos de LS a temperatura ambiente son poner los tubos sobre un banco de laboratorio durante al menos 2 horas, incubar los tubos de LS en una incubadora a 37 ± 1 °C durante 1 hora o 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. Retire el caldo de enriquecimiento de la incubadora.
5. Se requiere un tubo de LS para cada muestra y la muestra de control negativo (NC) (medio de enriquecimiento estéril).
  - 5.1 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.

5.2 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.

5.3 Transfiera la muestra enriquecida a los tubos LS como se describe a continuación:

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

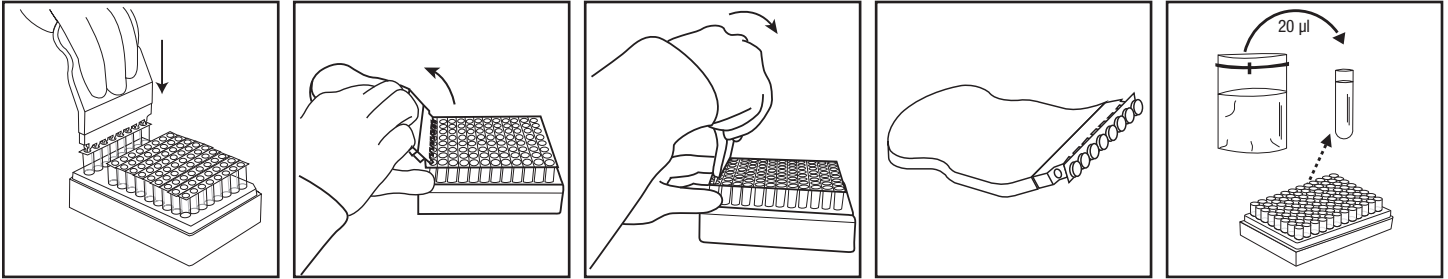
5.4 Use la herramienta de encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular de Neogen® para destapar una tira de tubo de solución de LS, una tira a la vez.

5.5 Deseche la tapa del tubo de LS. Si se retendrá el lisado para volver a realizar la prueba, coloque las tapas en un recipiente limpio para volver a aplicarlas después de la lisis.

5.5.1 Consulte el anexo A para procesamiento de lisado retenido.

5.6 Transfiera 20 µL de muestra a un tubo de LS, a menos que se indique lo contrario en la tabla de protocolos.

6. Repita el paso 5.2 hasta que cada muestra individual se haya agregado a un tubo de LS correspondiente en la tira.



7. Repita los pasos 5.1 a 5.6 según sea necesario, para la cantidad de muestras que se probarán.

8. Cuando se hayan transferido todas las muestras, transfiera 20 µL de NC (medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, BPW) a un tubo de LS. No use agua como NC.

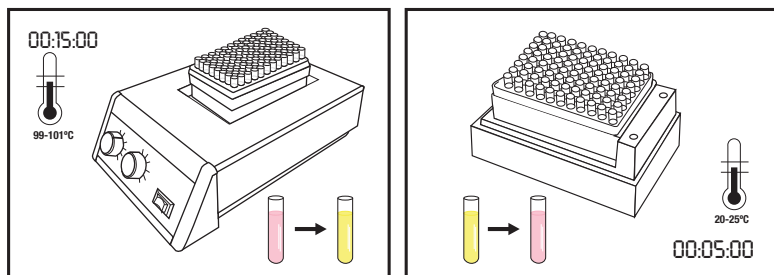
9. Verifique que la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular de Neogen sea de  $100 \pm 1$  °C.

10. Coloque la gradilla destapada de tubos de LS en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular y caliente durante  $15 \pm 1$  minutos. Durante el calentamiento, la solución de LS cambiará de rosado (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 Equipo de Detección Molecular de Neogen.

11. Retire la gradilla destapada de los tubos de LS del bloque de calentamiento y deje que se enfríe en el Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular de Neogen durante al menos 5 minutos y un máximo de 10 minutos. El Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular, 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.

12. Retire la gradilla de los tubos de LS del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular de Neogen.



### Amplificación

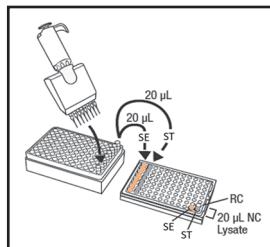
1. Se requiere un Tubo de Reactivo del Ensayo de Detección Molecular Neogen 2 – *Salmonella* Enteritidis (SE) y un Tubo de Reactivo del Ensayo de Detección Molecular Neogen 2 – *Salmonella* Typhimurium (ST) para cada muestra y el NC.
  - 1.1 Los tubos de reactivos de SE y ST se pueden ejecutar en la misma gradilla para cada muestra, o se pueden ejecutar en una gradilla separada.
  - 1.2 Las tiras de tubo de reactivos se pueden cortar según la cantidad de tubos deseada. Seleccione la cantidad de tubos individuales de reactivos o tiras de 8 tubos necesarios.
  - 1.3 Coloque los tubos de SE en una gradilla vacía en una columna.
  - 1.4 Coloque los tubos de ST en la columna derecha adyacente.
  - 1.5 Evite tocar los pellets del reactivo de la parte inferior de los tubos.



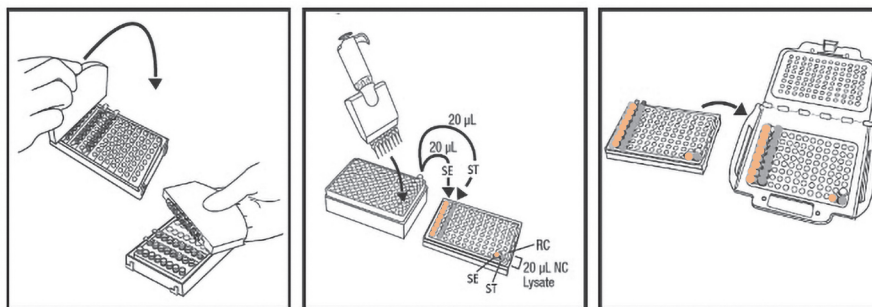
2. Seleccione un tubo de Control de Reactivo (RC) y colóquelo en la gradilla.
3. Para el lisado NC, seleccione un tubo de reactivo para SE y un tubo de reactivo para ST y colóquelos en la misma gradilla, si ambos serotipos se ejecutan juntos, o en gradillas separadas, si se ejecutan por separado.
4. 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.
5. Transfiera cada uno de los lisados a un tubo de reactivos para SE y ST como se describe a continuación.
  - 5.1 En primer lugar, transfiera cada lisado de muestra a un tubo de reactivo para SE como se describe en 5.5 y 5.6.
  - 5.2 En segundo lugar, transfiera cada una de las mismas muestras lisadas a un tubo de reactivo para ST en la columna derecha adyacente como se describe en 5.5 y 5.6.

**NOTA: Use una punta de pipeta nueva para cada transferencia. No use la misma punta de pipeta para transferencia para tubos de reactivos para SE y ST desde la misma muestra de lisado.**

- 5.3 Después de toda la transferencia de lisado de muestras, agregue lisado de NC a cada uno de los tubos de reactivos para SE y ST.
- 5.4 Transfiera el lisado de NC al final al tubo de control de reactivos.
- 5.5 Use la herramienta de encapuchado/desencapuchado del Sistema de Detección Molecular de Neogen® para destapar los tubos de reactivos para SE y ST, una tira de tubo de reactivo a la vez. Deseche la tapa.
- 5.6 **Transfiera 20 µL de lisado de muestra desde la ½ superior del líquido (evitar precipitado) del tubo de Solución de Lisis Neogen que corresponde al Tubo de Reactivo para SE y ST correspondiente. Distribuya en ángulo para evitar tocar los gránulos. Mezcle suavemente aspirando y expulsando el líquido con la pipeta 5 veces.**



- 5.7 Repita el paso 5.6 hasta que todos los lisados de muestra individual se hayan agregado a un tubo de reactivo para SE y ST correspondiente en la tira.
  - 5.8 Cubra los tubos de reactivos con las tapas extras provistas y use el lado redondeado de la herramienta de Encapuchado/Desencapuchado para el Sistema de Detección Molecular para aplicar presión en un movimiento hacia adelante y hacia atrás asegurándose de que la tapa se coloque bien.
  - 5.9 Repita los pasos 5.6 a 5.8 según sea necesario, para conocer el número de muestras que se van a analizar para los tubos de reactivos para SE y ST.
  - 5.10 Cuando se hayan transferido todos los lisados de muestra, repita de 5.6 a 5.8 para transferir 20 µL de lisado de NC a cada tubo de reactivo para SE y ST.
  - 5.11 Transfiera **20 µL de lisado de NC en un tubo de RC**. Distribuya en ángulo para evitar tocar los gránulos. Mezcle suavemente aspirando y expulsando el líquido con la pipeta 5 veces.
6. Cargue los tubos tapados en una Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular de Neogen limpia y descontaminada. Cierre bien la tapa de la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular de Neogen.



7. Revise y confirme la ejecución configurada en el Software de Detección Molecular de Neogen.
8. Haga clic en el botón Inicio del software y seleccione el instrumento que desea utilizar. La tapa del instrumento seleccionado se abrirá automáticamente.
9. Coloque la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular de Neogen en el Equipo 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 Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular de Neogen del Equipo de Detección Molecular y deseche los tubos al remojar en una solución de cloro de uso doméstico al 1-5 % (v:v en agua) durante 1 hora y alejado del área de preparación del ensayo.

**AVISO:** Para minimizar el riesgo de falsos positivos debido a la contaminación cruzada, nunca abra los tubos de reactivos que contienen ADN amplificado. Esto incluye los Tubos de Reactivo, el Control de Reactivos Neogen y los tubos de Control de Matriz Neogen para el ensayo de Detección Molecular Neogen 2 – *Salmonella* Enteritidis (SE) y el ensayo de Detección Molecular Neogen 2 – *Salmonella* Typhimurium (ST). Siempre deseche los tubos de reactivos sellados al remojar en una solución de cloro de uso doméstico al 1-5 % (v:v en agua) durante 1 hora y alejado del área de preparación del ensayo.

### Resultados e interpretación

Un algoritmo interpreta la curva de producción de luz que se obtiene de la detección de la amplificación de ácido nucleico. El software analiza automáticamente los resultados y los codifica por colores en función del resultado. Un resultado Positivo o Negativo se determina mediante el análisis de una serie de parámetros de curva únicos. Los resultados Positivos presuntos se informan en tiempo real, mientras que los resultados Negativos y de Inspección se muestran una vez que la ejecución está completa.

El Software de Detección Molecular de Neogen informa resultados por separado para cada uno de los ensayo (SE y ST).

Las muestras positivas presuntas se deben confirmar según procedimientos operativos estándar de laboratorio o con la confirmación de método de referencia adecuada, que comienza con la transferencia del caldo de enriquecimiento primario al caldo de enriquecimiento secundario, seguido del posterior enchapado y confirmación de aislados mediante métodos bioquímicos y serológicos.

**NOTA:** Incluso una muestra negativa no dará una lectura de cero dado que los reactivos de amplificación del sistema y el ensayo de detección molecular de Neogen 2 – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium tienen una lectura de unidad de luz relativa (RLU) “de fondo”.

En el raro caso de que ocurra cualquier salida de luz inusual, el algoritmo etiqueta esto como “Inspeccionar”. Neogen recomienda al usuario repetir el ensayo para cualquier muestra para inspección. Si el resultado sigue siendo Inspeccionar, continúe con la prueba de confirmación usando su método de preferencia o según lo especifiquen las regulaciones locales.

### 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 stuffs – General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Póngase en contacto con su representante de Seguridad Alimentaria de Neogen para obtener una copia de este documento.
7. ISO 6887-1:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
8. ISO 6887-2:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products.

### Explicación de los símbolos

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

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe, Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 EE. UU.  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. Todos los derechos reservados.  
Neogen es una marca registrada de Neogen Corporation.  
Todas las demás marcas comerciales mencionadas son propiedad de  
sus respectivas compañías.

FS00666A

## Instruções do produto

# Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen® – Kit de detecção de *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium

### Descrição do produto e uso pretendido

O Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen® – Kit de *Salmonella* Enteritidis/ *Salmonella* Typhimurium é usado com o Sistema de Detecção Molecular Neogen® para detecção rápida e específica de dois subtipos de *Salmonella*, *Salmonella* enterica subsp. *enterica* sorotipo Enteritidis (SE) e *Salmonella* enterica subsp. *enterica* sorotipo Typhimurium (incluindo as variantes monofásicas (ST), em amostras enriquecidas de aves e relacionadas a aves. O kit de detecção contém dois tubos de reagentes separados, um para detectar cepas do sorotipo SE e outro para detectar cepas do sorotipo ST. O Software do Sistema de Detecção Molecular Neogen® relata resultados separadamente para cada ensaio.

O ensaio usa amplificação isotérmica mediada por alça para amplificar rapidamente sequências de ácidos nucleicos com alta especificidade e sensibilidade, combinadas com bioluminescência para detectar a amplificação. Os resultados positivos presuntivos são relatados em tempo real, enquanto os resultados negativos são exibidos após a conclusão do ensaio. Resultados presumivelmente positivos devem ser confirmados usando o método de sua preferência ou conforme especificado pelas regulamentações locais<sup>(1, 2, 3)</sup>.

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

A Neogen avaliou o Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium com Água Peptonada Tamponada<sup>(1,2)</sup> e Água Peptonada Tamponada ISO<sup>(3)</sup>.

O Instrumento de Detecção Molecular Neogen® destina-se ao uso com amostras que passaram por tratamento térmico durante a etapa de lise do ensaio, que é projetado para destruir organismos presentes na amostra. Amostras que não foram adequadamente tratadas termicamente durante a etapa de lise do ensaio podem ser consideradas um risco biológico em potencial e NÃO devem ser inseridas no Instrumento de Detecção Molecular Neogen.

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

O Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen® – Kit de teste de *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium contém 48 testes de cada um dos reagentes SE e ST, descritos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Componentes do kit

Item	Identificação	Quantidade	Conteúdo	Comentários
Tubos de Solução de Lise (LS)	Solução rosa em tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µL de LS por tubo	Montado e pronto para uso
Tubos de reagente de <i>Salmonella</i> Enteritidis (SE)	Tubos beges	48 (2 bolsas; cada uma contendo 3 tiras de 8 tubos)	Mistura específica liofilizada de amplificação e detecção	Pronto para uso
Tubos de reagente de <i>Salmonella</i> Typhimurium (ST)	Tubos cinzas	48 (2 bolsas; cada uma contendo 3 tiras de 8 tubos)	Mistura específica liofilizada de amplificação e detecção	Pronto para uso
Tampas extras	Tampas beges	96 (12 tiras de 8 tampas)		Pronto para uso
Tampas extras	Tampas cinzas	96 (12 tiras de 8 tampas)		Pronto para uso
Controle de reagente (RC)	Tubos flip-top transparentes	16 (2 bolsas de 8 tubos individuais)	DNA de controle liofilizado, mistura de amplificação e detecção	Pronto para uso

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

## Segurança

O usuário deve ler, compreender e seguir todas as informações de segurança nas instruções do Sistema de Detecção Molecular Neogen® e do Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium. Guarde as instruções de segurança para referência futura.

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

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

**OBSERVAÇÃO:** Indica uma situação possivelmente perigosa que, se não for evitada, poderá resultar em danos materiais.

### ⚠ AVISO

**Não use o Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium no diagnóstico de doenças em seres humanos e animais.**

**O usuário deve treinar seu pessoal nas técnicas de teste adequadas e atuais: por exemplo, Boas Práticas de Laboratório, ISO/IEC 17025<sup>(4)</sup> ou ISO 7218<sup>(5)</sup>.**

**Para reduzir os riscos associados a um resultado falso-negativo que levam à liberação de produto contaminado:**

- Siga o protocolo e realize os testes exatamente conforme indicado nas instruções do produto.
- Armazene o Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium conforme indicado na embalagem e nas instruções do produto.
- Sempre use o Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen® – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium até a data de vencimento.
- Use o Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium com alimentos validados internamente ou por um terceiro.

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

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

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

- Utilize sempre luvas (para proteger o usuário e evitar a introdução de nucleases).

**Para reduzir os riscos associados à contaminação ambiental:**

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

### ⚠ CUIDADO

**Para reduzir os riscos associados à exposição a líquidos quentes:**

- Não exceda a definição de temperatura recomendada no chapa de aquecimento.
- Não exceda o tempo de aquecimento recomendado.
- Use um termômetro calibrado apropriado para verificar a temperatura do poço do Bloco de Aquecimento do Sistema de Detecção Molecular Neogen® (por exemplo, um termômetro de imersão parcial ou um termômetro termopar digital, não um termômetro de imersão total). O termômetro deve ser colocado no local designado no poço do Bloco de Aquecimento do Sistema de Detecção Molecular Neogen.

### OBSERVAÇÃO

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

- Troque as luvas antes da hidratação dos pellets reagentes.
- Recomenda-se o uso de ponteiras de pipeta estéreis, com barreira contra aerossóis (com filtros) e de qualidade para biologia molecular.
- Use uma ponteira de pipeta nova para cada transferência de amostra.
- Use Boas Práticas de Laboratório para transferir a amostra do enriquecimento para o tubo de lise. Para evitar a contaminação do pipetador, o usuário pode optar por adicionar uma etapa de transferência intermediária. Por exemplo, o usuário pode transferir cada amostra enriquecida para um tubo estéril.
- Use uma estação de trabalho de biologia molecular contendo lâmpada germicida, quando disponível. Descontamine periodicamente as bancadas e equipamentos do laboratório (pipetas, ferramentas para tampar/destampar etc.) com uma solução de alvejante doméstico de 1 a 5% (v:v em água) ou solução de remoção de DNA.

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

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

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

Se tiver dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, visite o nosso site em [www.neogen.com/foodsafety](http://www.neogen.com/foodsafety) ou entre em contato com seu representante ou distribuidor local da Neogen.

### Responsabilidade do usuário

Os usuários são responsáveis por se familiarizar com as instruções e informações do produto. Acesse nosso site em [www.neogen.com/foodsafety](http://www.neogen.com/foodsafety) ou entre em contato com o representante local ou distribuidor da Neogen para obter mais informações.

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

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

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

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

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

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

### Limitação de garantias/recurso limitado

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

### Limitação de responsabilidade da Neogen

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

### Armazenamento e descarte

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

## Instruções de Uso

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

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

O usuário deve concluir o treinamento de qualificação de operador (OQ) do Sistema de Detecção Molecular Neogen®, conforme descrito no documento "Protocolos e Instruções de Qualificação de Instalação (IQ)/Qualificação Operacional (OQ) para o Sistema de Detecção Molecular Neogen"<sup>(6)</sup>.

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

Tabela 3 de protocolos de enriquecimento de acordo com o Certificado da AOAC® Performance Tested<sup>SM</sup> n.º 122302.

### Enriquecimento da amostra

As Tabelas 2 ou 3 apresentam orientações para protocolos de enriquecimento para aves e amostras relacionadas a aves. É responsabilidade do usuário validar protocolos de amostragem alternativos ou taxas de diluição para garantir que este método de teste atenda aos critérios do usuário.

### Alimentos

1. Permita que o meio de enriquecimento BPW ISO ou BPW se equilibre com a temperatura ambiente do laboratório. Consulte Tabela 2 ou 3.
2. Combine asépticamente o meio de enriquecimento e a amostra. Para todas as amostras de carne e altamente particuladas, recomenda-se o uso de sacos filtrantes.
3. Homogenize completamente misturando, triturando ou misturando manualmente por  $2 \pm 0,2$  minutos até que a suspensão de enriquecimento fique homogênea<sup>(7,8)</sup>. Para todas as amostras de carne e altamente particuladas, recomenda-se o uso de sacos filtrantes. Incube conforme descrito na tabela de protocolo apropriada (consulte a Tabela 2 ou 3).

**Tabela 2.** Protocolos gerais de enriquecimento.

Amostra de matriz	Tamanho da amostra	Volume de caldo de enriquecimento	Temperatura de enriquecimento	Tempo de enriquecimento (horas)	Volume de análise da amostra <sup>(a)</sup>
Carne de frango moído cru	325 g	1.625 mL BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Lavagem de carcaça de frango (400 mL nBPW)	30 mL	30 mL BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Carne de frango moído cru	25 g	225 mL BPW ISO	41,5 ± 1 °C	18 - 24	20 µL
Carne de frango empanado cozido (nuggets de frango)	25 g	225 mL BPW ISO	37 ± 1 °C	18 - 24	20 µL

(a) Volume de amostra transferido para tubos de Solução de Lise. Consulte a etapa 5.6 da seção Lise.

### Instruções específicas para métodos validados

Certificado da AOAC® Performance Tested<sup>SM</sup> n.º 122302



No programa PTM<sup>SM</sup> do AOAC Research Institute, foi constatado que o Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium é um método eficaz para detecção de dois subtipos de *Salmonella*, *Salmonella* enterica subsp. *enterica* sorotipo Enteritidis (SE) e *Salmonella* enterica subsp. *enterica* sorotipo Typhimurium (incluindo a variante monofásica ST 1,4,[5],12;:-). As matrizes testadas no estudo são mostradas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Protocolos de enriquecimento de acordo com o Certificado da AOAC PTM<sup>SM</sup> n.º 122302.

Amostra de matriz	Tamanho da amostra	Volume de caldo de enriquecimento	Temperatura de enriquecimento	Tempo de enriquecimento (horas)	Volume de análise da amostra <sup>(a)</sup>
Carne de frango moído cru	325 g	1.625 mL BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Lavagem de carcaça de frango (400 mL nBPW)	30 mL	30 mL BPW	35 ± 2 °C	20 - 24	20 µL
Carne de frango moído cru	25 g	225 mL BPW ISO	41,5 ± 1 °C	18 - 24	20 µL
Carne de frango empanado cozido (nuggets de frango)	25 g	225 mL BPW ISO	37 ± 1 °C	18 - 24	20 µL

(a) Volume de amostra transferido para tubos de Solução de Lise. Consulte a etapa 5.6 da seção Lise.

### Preparação da Bandeja de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen®

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

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

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

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

Coloque o Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen em uma chapa de aquecimento a seco. Ligue a chapa de aquecimento a seco e ajuste a temperatura para permitir que o poço do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen atinja e mantenha uma temperatura de  $100 \pm 1$  °C.

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

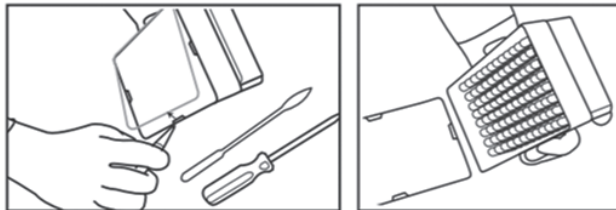
### Preparo do Instrumento de Detecção Molecular Neogen®

1. Inicie o Software de Detecção Molecular Neogen® e faça login. Entre em contato com seu representante da Neogen Food Safety para garantir que você tenha a versão mais atualizada do software.
2. Ligue o Instrumento de Detecção Molecular Neogen.
3. Crie ou edite uma corrida com dados para cada exemplo. Consulte o Manual do Usuário do Sistema de Detecção Molecular Neogen para obter detalhes.
  - 3.1. Para a corrida dos ensaios SE e ST, selecione o ícone de cada ensaio no software para executar os ensaios para cada amostra.
  - 3.2. Os ensaios SE e ST também podem ser executados separadamente para cada amostra.
  - 3.3. O NC é configurado para cada um dos tubos de reagente e um RC é configurado para o kit.

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

### Lise

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



2. Deixe os tubos de LS aquecerem ajustando o rack à temperatura ambiente (20 a 25 °C) durante a noite (16 a 18 horas). Alternativas para equilibrar os tubos de LS à temperatura ambiente são colocar os tubos de LS na bancada do laboratório por pelo menos 2 horas, incubar os tubos de LS em uma incubadora a  $37 \pm 1$  °C por 1 hora ou colocá-los na chapa de aquecimento a seco por 30 segundos a 100 °C.
3. Inverta os tubos tampados para misturar. Prossiga para a próxima etapa em até 4 horas.
4. Retire o caldo de enriquecimento da incubadora.
5. É necessário um tubo de LS para cada amostra e a amostra de Controle Negativo (NC) (meio de enriquecimento estéril).
  - 5.1 As tiras de tubo de LS podem ser cortadas de acordo com o número de tubo de LS desejado. Selecione o número de tubos individuais de LS ou tiras de 8 tubos necessários. Coloque os tubos de LS em um rack vazio.



5.2 Para evitar contaminação cruzada, destampe uma tira de tubos de LS de cada vez e use uma nova ponteira de pipeta para cada etapa de transferência.

5.3 Transfira a amostra enriquecida para tubos de LS conforme descrito abaixo:

Transfira cada amostra enriquecida para um tubo individual de LS **primeiro**. Transfira o NC **por último**.

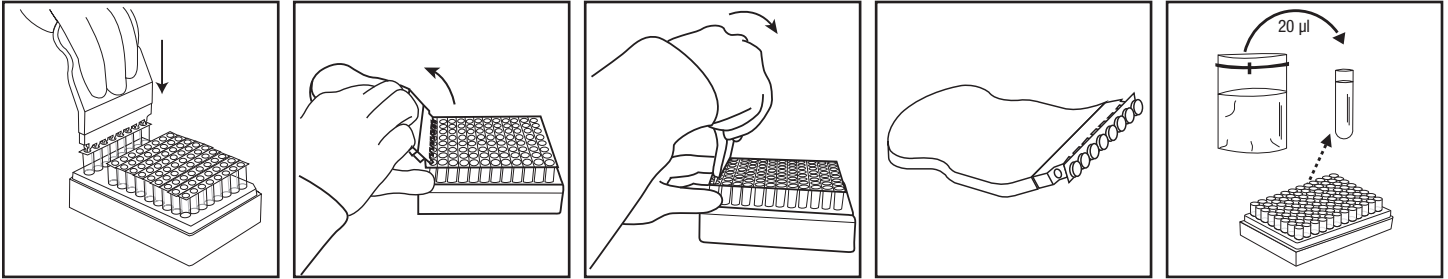
5.4 Use a Ferramenta de Tampar/Destampar de Detecção Molecular Neogen® para destampar uma tira de tubos de LS, uma tira por vez.

5.5 Descarte a tampa do tubo de LS. Se o lisado for retido para novo teste, coloque as tampas em um recipiente limpo para reaplicação após a lise.

5.5.1 Para processamento do lisado retido, consulte o Apêndice A.

5.6 Transfira 20 µL de amostra para um tubo de LS, salvo indicação em contrário na tabela de protocolos.

6. Repita a etapa 5.2 até que cada amostra individual tenha sido adicionada a um tubo correspondente de LS na tira.



7. Repita as etapas 5.1 a 5.6 conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas.

8. Quando todas as amostras tiverem sido transferidas, transfira 20 µL de NC (meio de enriquecimento estéril, por exemplo, BPW) para um tubo de LS. Não utilize água como NC.

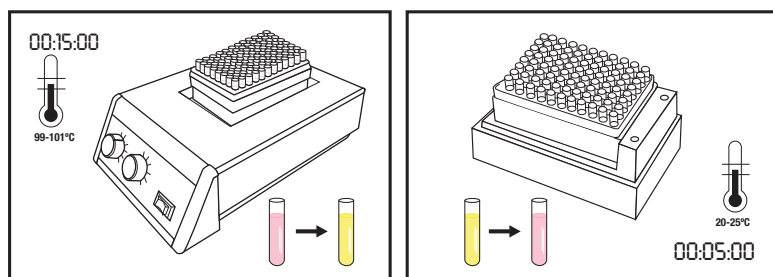
9. Verifique se a temperatura do poço do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen está em 100 ± 1 °C.

10. Encaixe o rack descoberto de tubos de LS no Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen e aqueça por 15 ± 1 minutos. Durante o aquecimento, a solução de LS mudará de rosa (fria) para amarela (quente).

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

11. Remova o rack descoberto dos tubos de LS do bloco de aquecimento e deixe esfriar encaixando o rack no Bloco de Resfriamento de Detecção Molecular Neogen por pelo menos 5 minutos e no máximo 10 minutos. O Bloco de Resfriamento Molecular Neogen, usado à temperatura ambiente e sem a Bandeja do Bloco de Resfriamento de Detecção Molecular, pois deve ficar diretamente na bancada do laboratório. Quando esfriar, a solução de lise reverterá para uma cor rosa.

12. Remova o rack de tubos de LS do Bloco de Resfriamento de Detecção Molecular Neogen.



### Amplificação

1. Um tubo de reagente do Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen – *Salmonella* Enteritidis (SE) e um tubo de reagente do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2 – *Salmonella* Typhimurium (ST) são necessários para cada amostra e o NC.

1.1 Os ensaios SE e ST podem ser executados no mesmo rack para cada amostra ou podem ser executados em um rack separado.

1.2 As tiras de tubos de reagente podem ser cortadas de acordo com o número de tubos desejados. Selecione o número de tubos individuais de reagente ou tiras de 8 tubos necessários.

1.3 Coloque os tubos SE em um rack vazio em uma coluna.

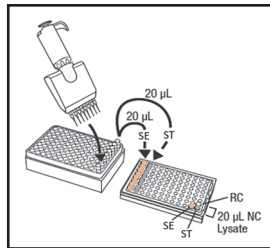
1.4 Coloque os tubos ST na coluna direita adjacente.

1.5 Evite mexer nos pellets de reagentes do fundo dos tubos.

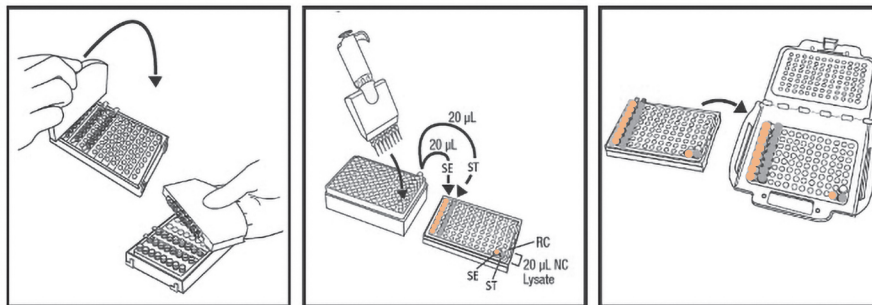
2. Selecione um tubo de controle de reagente (RC) e coloque-o no rack.
3. Para o lisado NC, selecione um tubo de reagente SE e um tubo de reagente ST e coloque no mesmo rack, se os dois sorotipos estiverem sendo executados juntos, ou em racks separados, se executá-los separados.
4. Para evitar contaminação cruzada, destampe uma tira de tubos de reagente de cada vez e use uma nova ponteira de pipeta para cada etapa de transferência.
5. Transfira cada um dos lisados para um tubo de reagente SE e ST, conforme descrito abaixo.
  - 5.1 Primeiro, transfira cada lisado de amostra para um tubo de reagente SE, conforme descrito em 5.5 e 5.6.
  - 5.2 Em segundo lugar, transfira cada um dos mesmos lisados de amostra para um tubo de reagente ST na coluna adjacente direita, conforme descrito em 5.5 e 5.6.

**OBSERVAÇÃO: Use uma ponteira de pipeta nova para cada transferência. Não use a mesma ponteira de pipeta para os tubos de reagente SE e ST da mesma amostra de lisado.**

- 5.3 Após toda a transferência de lisado da amostra, adicione o lisado de NC a cada um dos tubos de reagente SE e ST.
- 5.4 Transfira o lisado de NC por último para o tubo de controle de reagente.
- 5.5 Use a Ferramenta de Tampar/Destampar Reagentes de Detecção Molecular Neogen® para destampar os tubos de reagente SE e ST – uma tira de tubos de reagente por vez. Descarte a tampa.
- 5.6 **Transfira 20 µL de lisado de amostra da metade superior do líquido (evite o precipitado) no tubo da Solução de Lise Neogen para o tubo de reagente SE e ST correspondente. Dispense em ângulo para não perturbar os pellets. Misture pipetando com cuidado para cima e para baixo 5 vezes.**



- 5.7 Repita a etapa 5.6 até que todo o lisado de amostra individual tenha sido adicionado a um tubo de reagente SE e ST correspondente na tira.
  - 5.8 Tampe os tubos de reagente com as tampas extras fornecidas e use o lado arredondado da Ferramenta de Tampar/Destampar Reagentes de Detecção Molecular Neogen para aplicar pressão indo para frente e para trás, garantindo que a tampa fique bem apertada.
  - 5.9 Repita as etapas 5.6 a 5.8, conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas para tubos de reagente SE e ST.
  - 5.10 Quando todos os lisados das amostras tiverem sido transferidos, repita as etapas 5.6 a 5.8 para transferir 20 µL de lisado de NC para cada tubo de reagente SE e ST.
  - 5.11 **Transfira 20 µL de lisado de NC para um tubo de RC.** Dispense em ângulo para não perturbar os pellets. Misture pipetando com cuidado para cima e para baixo 5 vezes.
6. Coloque tubos tampados em uma bandeja limpa e descontaminada de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen. Feche e trave a tampa da Bandeja de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen.



7. Revise e confirme a corrida configurada no Software de Detecção Molecular Neogen.
8. Clique no botão Iniciar no software e selecione o instrumento a ser usado. A tampa do instrumento selecionado abre automaticamente.
9. Coloque a Bandeja de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen no instrumento de detecção molecular Neogen e feche a tampa para iniciar o ensaio. Os resultados são fornecidos dentro de 60 minutos, embora os positivos possam ser detectados mais cedo.

10. Após a conclusão do ensaio, remova a Bandeja de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen do Instrumento de Detecção Molecular Neogen e descarte os tubos mergulhando-os em uma solução de alvejante doméstico de 1-5% (v:v em água) por 1 hora e longe da área de preparação do ensaio.

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

### Resultados e interpretação

Um algoritmo interpreta a curva de emissão de luz resultante da detecção da amplificação do ácido nucleico.

Os resultados são analisados automaticamente pelo software e são codificados por cores com base no resultado.

Um resultado Positivo ou Negativo é determinado pela análise de uma série de parâmetros de curva únicos. Os resultados positivos presuntivos são relatados em tempo real, enquanto os resultados negativos e de inspeção serão exibidos após a conclusão da corrida.

O Software do Sistema de Detecção Molecular Neogen relata resultados separadamente para cada ensaio (SE e ST).

Amostras presumivelmente positivas devem ser confirmadas de acordo com os procedimentos operacionais padrões do laboratório ou seguindo a confirmação do método de referência apropriado, começando com a transferência do enriquecimento primário para caldo(s) de enriquecimento secundário, seguido de subsequente plaqueamento e confirmação de isolados utilizando métodos bioquímicos e sorológicos apropriados.

**OBSERVAÇÃO:** Mesmo uma amostra negativa não fornecerá uma leitura zero, pois o sistema e os reagentes de amplificação do Ensaio de Detecção Molecular 2 Neogen – *Salmonella* Enteritidis/*Salmonella* Typhimurium têm uma leitura de unidade relativa de luz (RLU) de "fundo".

No caso raro de qualquer saída de luz incomum, o algoritmo rotula isso como "Inspeccionar". A Neogen recomenda que o usuário repita o ensaio para qualquer amostra de inspeção. Se o resultado continuar sendo Inspeccionar, prossiga com o teste de confirmação usando o método de sua preferência ou conforme especificado pelas regulamentações locais.

### Referências:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella*, versão de setembro de 2023.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.14. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, Carcass, and Environmental Sponges. Data de vigência: 05 de junho de 2023.
3. ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Entre em contato com seu representante da Neogen Food Safety para obter uma cópia deste documento.
7. ISO 6887-1:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
8. ISO 6887-2:2017. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products.

### Explicação dos símbolos

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

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 EUA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Irlanda



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 EUA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. Todos os direitos reservados.  
Neogen é marca comercial da Neogen Corporation.  
Todas as outras marcas registradas mencionadas são propriedade das  
respectivas empresas.

FS00666A