



MOLECULAR ENVIRONMENTAL MONITORING PROGRAM (MEMP) ASSAY FOR SALMONELLA DETECTION INSERTO DEL KIT ACORDE AL FLUJO DE TRABAJO AOAC

USO PREVISTO Y APLICACIONES

El ensayo MEMP puede ser utilizado por productores de alimentos y laboratorios asociados para la detección rápida y confiable de *Salmonella* en muestras ambientales de acero inoxidable, plástico, caucho, baldosas de cerámica y concreto armado. Todos los ensayos MEMP están diseñados para tener el mismo tiempo de ejecución, lo que permite la identificación simultánea de todos los ensayos MEMP. Todos los ensayos MEMP incorporan un enfoque PCR tiempo real para identificar células de *Salmonella* expresadas a partir de muestras de hisopado.

El ensayo "Molecular Environmental Monitoring Program (MEMP) for *Salmonella* Detection" ha sido validado por AOACPTM Research Institute Performance Test Methods™ para la detección de *Salmonella* en muestras ambientales de acero inoxidable, plástico, caucho, baldosas de cerámica y concreto armado. El método FDA BAM fue utilizado como método de comparación. El ensayo MEMP demostró ser equivalente al método de referencia. El límite de detección para este ensayo MEMP es de 100 UFC/hisopo.

INFORMACION DEL PRODUCTO

SKU	DESCRIPCION	UDM / CANTIDAD
MEMP-SAL-032	MEMP Assay for <i>Salmonella</i> Detection	1 Kit 32 Tests

COMPONENTES DEL KIT

SKU	DESCRIPCION	CANTIDAD
KC-MEMP-SAL-LT	Tubos de Lisis para <i>Salmonella</i>	32 Reacciones 32 Tubos de Lisis 1 Pouch
KC-MEMP-RB-10	Buffer de Resuspensión	32 Reacciones 1 Frasco 1 Pouch
KC-MEMP-RS-8S	Tiras de Resuspensión	32 Tests 4 Tiras de 8 Tubos con Tapas 1 Pouch
KC-MEMP-SAL-8S	Tubos para PCR	32 Tests 4 Tiras de 8 Tubos con Tapas 1 Pouch



p 972 213 6032 | appliedfooddiagnostics.com
387 Hazle Street, Nuremberg, PA 18241

FUNDAMENTO

Durante la amplificación por PCR, los "primers" directos e inversos se hibridan con secuencias de ADN genómico de *Salmonella*. Se incluye una sonda fluorogénica en la misma mezcla de reacción que consiste en una sonda de ADN marcada con un indicador en la posición 5' y una molécula de inhibición en la posición 3'. Durante la amplificación por PCR, la sonda es cortada y tanto el indicador como la molécula de inhibición son separadas emitiendo fluorescencia. El aumento en la fluorescencia puede ser detectado en un instrumento para PCR tiempo real. Una sonda única y específica para *Salmonella* está presente en este ensayo. La sonda objetivo para *Salmonella* se encuentra en la longitud del canal FAMTM. Un control de amplificación interno (IAC) se encuentra incluido en la longitud del canal CAL Fluor® Red 610 dye channel.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS

Otros materiales necesarios No proporcionados incluyen:

MUESTRAS AMBIENTALES POR HISOPADO

- AFD MEMP Swab Kit (SKU#: MEMP-SWB-032) Incluye 32 Unidades de los Siguiente:
 - Hisopos Estériles (SKU#: SC-SFCS-SWAB)
 - Frascos con Buffer Neutralizante y de Recuperación (SKU#: KC-MEMP-NRB-001)
 - Tubos para Muestra de Hisopados con Solución de Extracción (SKU#: KC-MEMP-SES-001)
- Sistema PCR Tiempo-Real MyGo Pro y Software MyGo Pro v3.4
- Bloques de Calentamiento
- Termómetro Calibrado
- Vortex (Opcional)
- Mini-Centrífuga (Opcional)
- Herramienta de Apertura / Cierre de Tubos PCR (Opcional)
- Pipetas Monocanal Ajustables
- Pipeta Multi-Canal
- Guantes sin Polvo

PRECAUCIONES

Este producto es solo para uso diagnóstico in vitro. No ingerir, inhalar ni permitir que entren en contacto con la piel. Observe las precauciones de riesgo biológico aprobadas y las técnicas asépticas. Se deben ejercer procedimientos de nivel 2 de bioseguridad (BMBL, <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/bmbl.pdf> o sitio actual). Se debe tener mucho cuidado al manipular muestras de prueba, ya sea que contengan o no especies de *Salmonella*. Este kit debe ser utilizado únicamente por personal de laboratorio debidamente capacitado y calificado en un entorno de laboratorio. Todas las muestras de laboratorio deben considerarse infecciosas y deben manejarse adecuadamente.

PROCEDIMIENTO

PREPARACIÓN DE MUESTRAS AMBIENTALES DE SUPERFICIES

1. Hidrate el hisopo estéril con la solución Neutralizante y de Recuperación.
2. Hisope la superficie a ser analizada con un lado del hisopo en dirección horizontal (aproximadamente 1 pulgada) y con el otro lado del hisopo en dirección vertical (aproximadamente 1 pulgada), una vez hacia adelante y una vez hacia atrás cubriendo toda el área.
3. Abra el tubo para muestras de hisopado con la solución de extracción y coloque dentro el hisopo. Rote varias veces el hisopo dentro de la solución de extracción para suspender cualquier célula en la solución.
4. Con el hisopo sumergido en la solución de extracción, quiebre el hisopo dentro del tubo para muestras a 30 mm del borde y cierre el tubo.
5. Sino procede con el ensayo dentro de 2 a 3 horas, el hisopado se puede mantener en refrigeración hasta por 30 horas.

PREPARACIÓN DEL ENSAYO

1. Después de colocar el hisopo en la solución de extracción proceda con el protocolo de Lisis.
2. La configuración del qPCR y el ingreso de datos deben completarse antes de transferir las muestras.
3. Prepare el equipo:
 - Encienda y programe un bloque de calentamiento a 37 ± 2°C. Verifique la temperatura con un termómetro calibrado.
 - Encienda y programe el segundo bloque de calentamiento a 95 ± 3°C. Verifique la temperatura con un termómetro calibrado.
 - Encienda el instrumento qPCR y cree el archivo de ejecución desde la plantilla SIMUL-qPCR. La plantilla SIMUL-qPCR contiene el ciclo requerido.

CONFIGURACION DEL INSTRUMENTO QPCR

Referirse a la Guía de configuración del qPCR para instrucciones relacionadas con el instrument qPCR.

PROTOCOLO DE LISIS

1. Identifique los tubos de lisis correspondientes a las muestras.
2. Asépticamente pipetee 500 µL de la solución de extracción y coloque dentro del tubo de lisis y cierre el tubo. Guarde / retenga el remanente de la solución de extracción con el hisopo para confirmación.
3. Agite o mezcle la muestra para hidrolizar el pellet.
4. Coloque los tubos de lisis en el bloque de calentamiento e incube a 37 ± 2°C por 15 minutos.
5. Coloque los tubos de lisis en el segundo bloque de calentamiento e incube a 95 ± 3°C por 10 minutos.
6. Retire los tubos de lisis del bloque de calentamiento y deje enfriar a temperatura ambiente por 5 minutos.
7. Proceda inmediatamente con el ensayo o almacene en refrigeración (2-8°C) hasta por 48 horas antes de proceder con el ensayo MEMP *Salmonella*.
8. Organice los tubos de resuspensión y abra asépticamente las tapas.
9. Pipetee 180 µL de la solución de resuspensión en los tubos de resuspensión.
10. Pipetee 20 µL del lisado en los tubos de resuspensión.

CONFIGURACION DEL ENSAYO MEMP

1. Organice las tiras de tubos de PCR de acuerdo con su archivo de ejecución.
2. Con precaución, retire las tapas de la tira de tubos.
3. Pipetee 20 µL de lisado en los tubos de las tiras para PCR, asegurese que el pellet esté hidratado. Los pellets para PCR deben hidratarse y re-sellarse dentro de 10 minutos después de la apertura de las tapas de los tubos para PCR.
4. Coloque las tapas en cada tubo y presione hacia abajo para sellar cada tapa.
5. Asegurese de que cada tapa esté bien asegurada antes de ejecutar la prueba.
6. Si hay burbujas de aire, mueva cuidadosamente los tubos de reacción hasta que no queden burbujas de aire.
7. Gire brevemente los tubos de reacción en una minicentrífuga.
8. Coloque los tubos en el instrument qPCR e inicie el ensayo.



INTERPRETACION DE RESULTADOS DEL ENSAYO MEMP

Una vez que se complete el ensayo MEMP, el software analiza los datos automáticamente. El software analiza cualquier dato de aplicación de ADN y mostrará un valor Cq para cualquier muestra que se amplifique. La amplificación en el canal FAMTM indica *Salmonella*. Un valor Cq que tenga una curva sigmoideal típica o el inicio de la curva se considera positivo para el objetivo. Cuando no se obtiene un valor Cq, el resultado es negativo para el objetivo siempre que haya un valor Cq presente en el canal CAL Fluor® Red 610 para el IAC (Control Interno de Amplificación).

Todos los resultados positivos son considerados como presunto positivo y requiere confirmación. Presuntos Positivos deben ser enriquecidos y analizados acorde al ensayo AFD SIMUL-qPCR *Salmonella*. Cualquier resultado positivo obtenido en el ensayo AFD SIMUL-qPCR *Salmonella* debe ser confirmado utilizando el método FDA BAM (<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam-chapter-5-salmonella>).

Nota: Algunos resultados positivos pueden ser difíciles de confirmar culturalmente debido a los bajos niveles de células objetivo, los altos niveles de flora de fondo o una combinación de estos factores. Póngase en contacto con el soporte técnico para obtener información adicional.

ALMACENAMIENTO Y VENCIMIENTO DEL PRODUCTO

Almacene el kit sellado a 2 - 8°C. Una vez abierto, proteja los componentes del kit de la humedad y la luz manteniendo los recipientes bien cerrados después de cada uso. Vuelva a sellar los tubos qPCR en una bolsa de aluminio con cierre hermético. La fecha de caducidad se indica en el paquete.

DESCARTE

Deseche todos los materiales utilizados y el medio de enriquecimiento en autoclave o de acuerdo con las prácticas aprobadas.

Asegúrese de que todos los desechos de riesgo biológico se eliminen de acuerdo con las regulaciones locales, municipales, provinciales, estatales y / o federales.

INFORMACION TECNICA

Si tiene alguna pregunta o problemas de experiencia con este kit, comuníquese con nuestro personal de soporte por correo electrónico. (support@appliedfooddiagnostics.com). Para mas información relacionada con Applied Food Diagnostics, Inc. por favor visite nuestra página web (www.appliedfooddiagnostics.com).

CONTROL DE CALIDAD

Todos los productos fabricados por Applied Food Diagnostics, Inc. se encuentran incluidos dentro del programa de aseguramiento de calidad desde el momento en que las materias primas llegan a la fábrica hasta la comercialización del producto final. Cada lote de producto final se somete a un control de calidad y solo se comercializa si cumple con los criterios de aceptación. Se archiva la documentación relativa a la producción y verificación de cada lote. Un certificado de análisis de control de calidad y las hojas de datos de seguridad están disponibles en la página web (www.appliedfooddiagnostics.com).

TERMINOS Y CONDICIONES

Applied Food Diagnostics, Inc. no hace representaciones y garantías con respecto a sus productos que no sean los establecidos en este documento. Todos los productos entregados a continuación por Applied Food Diagnostics, Inc., sus afiliados, o cualquier otra persona en su nombre, serán fabricados al momento de la entrega para cumplir con las especificaciones de Applied Food Diagnostics, Inc. y todas las leyes aplicables. Todos los demás términos, condiciones y garantías, incluida cualquier garantía de comerciabilidad, calidad, idoneidad o idoneidad para un propósito particular o previsto, implícito en la ley o estatuto común (garantías implícitas) están expresamente excluidos.

RENUNCIA DE RESPONSABILIDAD

Este kit y sus características de rendimiento fueron desarrollados por Applied Food Diagnostics, Inc., para uso en laboratorio. Cualquier desviación de este protocolo no está autorizada por Applied Food Diagnostics, Inc.

LICENCIA DE ETIQUETA DE USO LIMITADO

Este producto está cubierto por al menos uno o más claims de solicitudes de patentes de EE. UU., que tienen licencia de Applied Food Diagnostics, Inc. Este producto se vende estrictamente para uso del comprador, y el comprador no está autorizado para transferir este producto, o cualquier material que use este producto, a cualquier tercero.

* Todas las marcas registradas son propiedad de sus respectivos dueños.

