

Инструкции к препарату

Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*

Описание и предназначение продукта

Комплект «3M™ Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» используется вместе с системой молекулярной диагностики 3M™ для быстрого и точного обнаружения штаммов *Salmonella* в обогащенных пробах пищевых продуктов, кормов и сред обработки пищевых продуктов.

В комплектах «Молекулярная диагностика 3M» используется петлевая изотермическая амплификация для быстрого расширения нуклеотидных последовательностей с высокой точностью и чувствительностью в сочетании с биолюминесценцией для выявления амплификации. Предполагательно положительные результаты отображаются в реальном времени, а отрицательные результаты — по завершении анализа. Результаты, которые можно считать положительными, следует подтверждать предпочтительным для вас методом или в соответствии с местными нормативными требованиями^(1, 2, 3).

Комплект «3M Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» предназначен для применения в лабораторных условиях специалистами, прошедшими обучение лабораторным методам работы. Компания 3M документально не подтверждала возможность использования этого продукта в других отраслях промышленности, кроме отрасли производства продуктов питания и напитков. Например, компания 3M не подтверждала документально возможность использования этого продукта для тестирования фармацевтических, косметических, клинических или ветеринарных проб. Действие комплекта «3M Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» не оценивалось в отношении всех возможных пищевых продуктов, технологий обработки пищевых продуктов, протоколов тестирования и штаммов бактерий.

Как и в случае применения любого метода тестирования, на результаты исследования может повлиять источник, состав и качество обогатительной среды. На результаты исследования могут также повлиять такие факторы, как метод отбора проб, протоколы тестирования, подготовка проб, способы обработки, а также методика лабораторной работы. Чтобы гарантировать соответствие выбранного метода критериям пользователя, компания 3M рекомендует оценить метод, включая обогатительную среду, непосредственно в лаборатории пользователя с применением достаточного количества проб, конкретных пищевых продуктов и микробных провокационных проб.

Компания 3M оценивала действие комплекта «3M Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» с забуференной пептонной водой ISO.

Прибор для молекулярной диагностики 3M™ предназначен для использования вместе с пробами, прошедшими тепловую обработку на этапе лизиса, который проводится с целью уничтожения присутствующих в пробе организмов. Пробы, которые не прошли надлежащую тепловую обработку на этапе лизиса, могут представлять биологическую опасность. ЗАПРЕЩАЕТСЯ вставлять их в прибор для молекулярной диагностики 3M.

Процессы разработки и производства компании 3M Food Safety прошли проверку и получили сертификат ISO 9001 (Международная организация по стандартизации).

В комплекте «3M Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» содержится 96 тестов, описание которых приведено в таблице 1.

Таблица 1. Компоненты комплекта

Элемент	Обозначение	Количество	Содержимое	Комментарии
Раствор для лизиса (LS) ЗМ™	Розовый раствор в прозрачных пробирках	96 (12 пластинок по 8 пробирок на каждой)	580 мкл раствора для лизиса в каждой пробирке	В штативе и готовы к использованию
Пробирки с реагентом «ЗМ™ Молекулярный анализ 2 - Salmonella»	Зеленые пробирки	96 (12 пластинок по 8 пробирок на каждой)	Лиофилизированная смесь для амплификации и обнаружения штаммов	Готовы к использованию
Запасные колпачки	Зеленые колпачки	96 (12 пластинок по 8 колпачков на каждой)		Готовы к использованию
ЗМ™ Контроль реагентов (RC)	Прозрачные пробирки с контрольно-герметизирующими крышками	16 (2 пакета по 8 отдельных пробирок в каждом)	Лиофилизированная контрольная ДНК, смесь для амплификации и обнаружения штаммов	Готовы к использованию
Краткое руководство по началу работы		1		

Отрицательный контроль (NC), не входящий в комплект, представляет собой стерильную обогатительную среду, например забуференную пептонную воду (BPW) ISO. Не используйте воду в качестве среды для отрицательного контроля.

Техника безопасности

Прочтите, примите к сведению и соблюдайте все правила техники безопасности, содержащиеся в инструкциях по использованию системы молекулярной диагностики ЗМ и комплекта «ЗМ Молекулярный анализ 2 - Salmonella». Сохраните инструкции по технике безопасности для использования в дальнейшем.

⚠ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ. Указывает на опасную ситуацию, которая, если ее не избежать, может привести к смерти или тяжелой травме и (или) к повреждению имущества.

УВЕДОМЛЕНИЕ. Указывает на потенциально опасную ситуацию, которая, если ее не избежать, может привести к повреждению имущества.

⚠ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Не используйте комплект «ЗМ Молекулярный анализ 2 - Salmonella» для диагностирования заболеваний людей или животных.

Пользователь несет ответственность за обучение персонала соответствующим методикам проведения тестирования, например описанным в своде правил «Надлежащие лабораторные практики» (Good Laboratory Practices), стандарте ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ или ISO 7218⁽⁵⁾.

Для снижения рисков, связанных с выпуском зараженного продукта вследствие ложноотрицательного результата, соблюдайте приведенные далее правила.

- Соблюдайте протокол и выполняйте тестирование в строгом соответствии с инструкциями к продукту.
- Храните комплект «ЗМ Молекулярный анализ 2 - Salmonella» согласно указаниям на упаковке и инструкциям к продукту.
- Не используйте комплект «ЗМ Молекулярный анализ 2 - Salmonella» после истечения срока его годности.
- Используйте комплект «ЗМ Молекулярный анализ 2 - Salmonella» только для проб пищевых продуктов, кормов и сред производства пищевых продуктов, прошедших внутреннюю или стороннюю проверку.
- Используйте комплект «ЗМ Молекулярный анализ 2 - Salmonella» только на тех поверхностях, с теми дезинфицирующими средствами, в соответствии с теми протоколами и для тех штаммов бактерий, которые прошли внутреннюю или стороннюю проверку.
- Пробу окружающей среды, которая содержит нейтрализующий буферный раствор с арилсульфонатным комплексом, следует перед проверкой разбавить в пропорции 1:2 (1 часть пробы в 1 части стерильного обогатительного бульона). Альтернативный вариант — перенести 10 мкл обогатительной среды нейтрализующего буферного раствора в пробирки с раствором для лизиса ЗМ. Продукты для подготовки проб к анализу ЗМ™, которые включают нейтрализующий буферный раствор с арилсульфонатным комплексом: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB и HS119510NB.

Для снижения рисков, связанных с воздействием химических и биологически опасных веществ, соблюдайте приведенные далее правила.

- Выполняйте тестирование на патогены в оборудованной надлежащим образом лаборатории под контролем обученного персонала. Инкубированные обогатительные среды, а также оборудование или поверхности, которые контактировали с инкубированными обогатительными средами, могут содержать патогены в количестве, достаточном для угрозы здоровью человека.
- Обязательно соблюдайте стандартные лабораторные меры обеспечения безопасности, в том числе используйте защитную одежду и средства защиты глаз при работе с реагентами и загрязненными пробами.
- Избегайте контакта с содержимым обогатительных сред и пробирками с реагентом после амплификации.
- Утилизируйте обогащенные пробы в соответствии с действующими промышленными стандартами.
- Пробы, которые не прошли надлежащую тепловую обработку на этапе лизиса, могут представлять биологическую опасность. ЗАПРЕЩАЕТСЯ вставлять их в прибор для молекулярной диагностики ЗМ.

Для снижения рисков, связанных с перекрестным загрязнением при подготовке проб для диагностики, соблюдайте приведенные далее правила.

- Обязательно надевайте перчатки (для защиты пользователя и во избежание введения нуклеаз).

Для снижения рисков, связанных с загрязнением окружающей среды, соблюдайте приведенные далее правила.

- Придерживайтесь действующих промышленных стандартов в области утилизации загрязненных отходов.

Для снижения рисков, связанных с воздействием горячих жидкостей, соблюдайте приведенные далее правила.

- Не превышайте рекомендованную температуру в нагревателе.
- Не превышайте рекомендованную продолжительность нагрева.
- Для проверки температуры внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики ЗМ™ следует использовать соответствующим образом откалиброванный термометр (например, термометр частичного погружения или термопарный цифровой термометр, но не термометр полного погружения). Термометр следует вставить в специально отведенное место на внутреннем нагревательном блоке для молекулярной диагностики ЗМ.

УВЕДОМЛЕНИЕ

Для снижения рисков, связанных с перекрестным загрязнением при подготовке проб для диагностики, соблюдайте приведенные далее правила.

- Перед смачиванием осадка реагента меняйте перчатки.
- Рекомендуется использовать стерильные аэрозоль-устойчивые (фильтрующие) наконечники для пипеток, применяемые в молекулярной биологии.
- Для переливания каждой пробы используйте пипетку с новым наконечником.
- При переливании пробы из обогатительной среды в пробирку с раствором для лизиса придерживайтесь свода правил «Надлежащие лабораторные практики» (Good Laboratory Practices). Во избежание загрязнения микродозатора можно добавить дополнительный этап переливания. Например, пользователь может переливать каждую обогащенную пробу в стерильную пробирку.
- По возможности следует использовать установки для работ в области молекулярной биологии, оборудованные бактерицидными лампами. Периодически проводите дезинфекцию лабораторных столов и оборудования (пипеток, инструментов для запечатывания и распечатывания пробирок и т. д.) с помощью раствора бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) или раствора для удаления ДНК.

Для снижения рисков, связанных с получением ложноположительных результатов, соблюдайте приведенные далее правила.

- Ни в коем случае не открывайте пробирки после амплификации.
- Всегда утилизируйте загрязненные пробирки путем погружения в раствор бытового отбеливателя (1–5 % в объемном соотношении с водой) на 1 час вдали от зоны подготовки проб для диагностики.
- Ни в коем случае не подвергайте пробирки с реагентом автоклавной обработке после амплификации.

Дополнительную информацию и местные нормативные требования в отношении утилизации отходов см. в паспортах безопасности.

Если у вас возникли вопросы по определенным способам применения или процедурам, посетите наш веб-сайт по адресу www.3M.com/foodsafety или обратитесь к местному представителю или дистрибьютору компании ЗМ.

Дистрибьютор продукции ЗМ - ООО "МикроБио"

123060, Москва, 1-Волоколамский проезд, д.10, Тел. (495) 221-20-26, info@mibio.ru, www.mibio.ru

ОБЯЗАННОСТИ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Пользователи несут полную ответственность за ознакомление с инструкциями и информацией об использовании продукта. Для получения более подробной информации посетите наш веб-сайт по адресу www.3M.com/foodsafety либо свяжитесь с вашим местным представителем или дистрибьютором 3М.

При выборе метода исследования важно понимать, что на результаты исследования могут влиять внешние факторы, например метод забора проб, протокол исследования, подготовка проб к исследованию, способы обработки проб во время исследования, а также используемое оборудование.

За выбор метода исследования и исследуемого продукта отвечает пользователь. Пользователь должен на основании исследования достаточного количества образцов с помощью надлежащих матриц и микробных провокационных проб определить, отвечает ли выбранный метод исследования необходимым ему критериям.

Пользователь также несет ответственность за то, что выбранный им метод исследования отвечает требованиям его клиентов или поставщиков.

Результаты, полученные с помощью продукта 3М Food Safety (как и при использовании любого другого метода исследований), не гарантируют качество матриц или технологических процессов, подвергавшихся исследованиям.

Чтобы помочь клиентам оценить метод применительно к различным пищевым матрицам, компания 3М разработала комплект «Контроль матрицы для молекулярной диагностики 3М™». В случае если необходимо определить, может ли матрица повлиять на результаты тестов из комплекта «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*», используйте контроль матрицы (МС) 3М. При первоначальном использовании метода 3М или тестировании новых или неизвестных матриц либо матриц, материалы или методы обработки которых подверглись изменениям, протестируйте несколько репрезентативных проб матрицы, т. е. проб различного происхождения, в течение любого периода проверки.

Матрицу можно определить как тип продукта с характерными свойствами, такими как состав и метод обработки. Различия между матрицами могут быть вызваны просто различиями в их обработке или состоянии. Например, сырые или пастеризованные, свежие или высушенные и т. д.

ОГРАНИЧЕНИЕ ГАРАНТИЙ / ОГРАНИЧЕННАЯ ЗАЩИТА ПРАВ

ЕСЛИ ИНОЕ ЯВНО НЕ УКАЗАНО В РАЗДЕЛЕ ОБ ОГРАНИЧЕННОЙ ГАРАНТИИ НА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ УПАКОВКЕ ПРОДУКТА, 3М НЕ ПРИЗНАЕТ ПРЯМЫЕ ИЛИ КОСВЕННЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА, ВКЛЮЧАЯ ПОМИМО ПРОЧЕГО, ГАРАНТИЮ ТОВАРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИЛИ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СООТВЕТСТВИИ С УКАЗАННОЙ ОБЛАСТЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ. Если качество продукта отдела безопасности пищевой продукции компании 3М не является надлежащим, компания 3М или уполномоченный этой компанией дистрибьютор обязуется по своему усмотрению заменить этот продукт или возместить стоимость покупки этого продукта. Это единственный способ разрешения спора. О возможном дефекте необходимо немедленно уведомить компанию 3М в течение шестидесяти дней с момента его обнаружения, после чего вернуть продукт в компанию 3М. Для санкционирования возврата товара позвоните в Службу поддержки клиентов (1-800-328-1671 в США) или своему официальному представителю отдела Контроля возврата компании 3М.

ОГРАНИЧЕНИЕ ОТВЕТСТВЕННОСТИ КОМПАНИИ 3М

3М НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА УЩЕРБ ИЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ЯВЛЯЮЩИЕСЯ ПРЯМЫМИ, НЕПРЯМЫМИ, УМЫШЛЕННЫМИ, СЛУЧАЙНЫМИ ИЛИ КОСВЕННЫМИ, ВКЛЮЧАЯ ПОМИМО ПРОЧЕГО УТРАЧЕННУЮ ПРИБЫЛЬ. Ответственность компании 3М ни при каких обстоятельствах и несмотря ни на какие требования не может превышать стоимость продукта.

Хранение и утилизация

Комплект «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» следует хранить при температуре 2–8 °С. Не замораживайте продукт. Храните комплект вдали от источников света. После открытия комплекта убедитесь в том, что пакет из фольги не поврежден. Если пакет поврежден, не используйте продукт. Открытые неиспользуемые пробирки с реагентом следует хранить в повторно герметизируемом пакете с влагопоглотителем. Это обеспечивает стабильность лиофилизированных реагентов. Повторно герметизированные пакеты можно хранить при температуре 2–8 °С не более 60 дней.

Не используйте комплект «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» после истечения срока его годности. Дата истечения срока годности и номер партии указаны на этикетке на наружной поверхности коробки. После применения обогатительная среда и пробирки из комплекта «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» могут содержать болезнетворные микроорганизмы. По окончании тестирования утилизируйте загрязненные отходы согласно действующим промышленным стандартам. Дополнительную информацию и местные нормативные требования в отношении утилизации отходов см. в паспортах безопасности.

Дистрибьютор продукции 3М - ООО "МикроБио"

123060, Москва, 1-Волоколамский проезд, д.10, Тел. (495) 221-20-26, info@mibio.ru, www.mibio.ru

Инструкции по применению

Строго соблюдайте все инструкции. В противном случае результаты могут быть неточными.

Периодически проводите дезинфекцию лабораторных столов и оборудования (пипеток, инструментов для запечатывания и распечатывания пробирок и т. д.) с помощью раствора бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) или раствора для удаления ДНК.

Пользователь должен пройти обучение по вопросам аттестации функционирующего оборудования (OQ) применительно к системе молекулярной диагностики ЗМ, как описано в документе «Аттестация установленного оборудования (IQ) и аттестация функционирующего оборудования (OQ): протоколы и инструкции для системы молекулярной диагностики ЗМ»⁽⁶⁾.

Особые требования см. в разделе «Особые инструкции к утвержденным методам».

Таблица 3: протоколы обогащения согласно AOAC® *Official Method of Analysis*SM **2016.01** и AOAC® *Performance Tested*SM, сертификат № **091501**.

Таблица 4: протоколы обогащения согласно сертификату NF VALIDATION **ЗМ 01.16–11.16**.

Обогащение пробы

В таблицах 2, 3 и 4 приведены инструкции по обогащению проб пищевых продуктов, кормов и окружающей среды.

За проверку альтернативных протоколов отбора проб или степеней разбавления для обеспечения соответствия этого метода тестирования критериям пользователя несет ответственность сам пользователь.

Пищевые продукты

1. Подождите, пока температура обогатительной среды BPW ISO не достигнет температуры окружающей среды в лаборатории или $41,5 \pm 1$ °C (в зависимости от тестируемых матриц). См. таблицы 2, 3 и 4.
2. Совместите среду обогащения и пробу в стерильных условиях. В случае тестирования проб мяса и проб высокодисперсных материалов рекомендуется использовать мешочные фильтры.
3. Добейтесь однородности исследуемого раствора, тщательно перемешивая его в мешалке, гомогенизаторе или вручную в течение $2 \pm 0,2$ минут. Выполните инкубирование согласно описанию в соответствующей таблице с протоколами См. таблицы 2, 3 и 4.

Пробы из окружающей среды

Для сбора проб можно использовать губку, смоченную в нейтрализующем растворе, который инактивирует дезинфицирующие средства. Компания ЗМ рекомендует использовать небактерицидные целлюлозные губки. В качестве нейтрализующего раствора можно использовать нейтрализующий бульон Ди — Ингли (D/E) или летиновый бульон. Рекомендуется продезинфицировать область отбора проб по окончании этой процедуры.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ. Если для смачивания губки используется нейтрализующий буферный раствор, содержащий арилсульфонатный комплекс, перед тестированием обогатительную пробу окружающей среды необходимо растворить в отношении 1:2 (1 часть пробы в 1 части стерильного обогатительного бульона) с целью снижения рисков, связанных с получением ложноотрицательных результатов и выпуском загрязненного продукта. Альтернативный вариант — перенести 10 мкл обогатительной среды нейтрализующего буферного раствора в пробирки с раствором для лизиса ЗМ.

Рекомендуемый размер участка забора для проверки наличия или отсутствия патогенов на поверхности составляет 100 см^2 (10 x 10 см или 4 x 4 дюйма). В случае отбора проб с помощью губки проведите ее по всей области в двух направлениях (слева направо и затем сверху вниз) либо соберите пробы окружающей среды в соответствии с действующим протоколом отбора проб или рекомендаций⁽¹⁾, USDA FSIS MLG⁽²⁾ или стандарта ISO 18593:2004⁽⁹⁾.

За проверку альтернативных протоколов отбора проб или степеней разбавления для обеспечения соответствия этого метода тестирования критериям пользователя несет ответственность сам пользователь.

1. Предварительно нагрейте обогатительную среду BPW ISO до температуры $41,5 \pm 1$ °C (в зависимости от тестируемых матриц). См. таблицы 2, 3 и 4.
2. Совместите среду обогащения и пробу в стерильных условиях. Добейтесь однородности исследуемого раствора, тщательно перемешивая его в мешалке, гомогенизаторе или вручную в течение $2 \pm 0,2$ минут. Выполните инкубирование согласно описанию в соответствующей таблице с протоколами См. таблицы 2, 3 и 4.

Таблица 2. Общие протоколы обогащения.

Матрица пробы	Размер пробы	Объем обогатительного бульона	Температура обогащения (±1 °С)	Время обогащения (ч)	Анализируемый объем пробы (мкл) ^(а)
Протокол 1. Пищевые продукты, подвергшиеся технологической обработке (за исключением яичных порошков и продуктов, указанных в других протоколах). ^(b)	25 г	225 мл BPW ISO	37	18-26	20
Протокол 2. Сырые и не подвергавшиеся технологической обработке продукты, яичные порошки, корма для животных и пробы окружающей среды. ^(c)	25 г	225 мл BPW ISO (предварительный нагрев)	41,5	18-26	20
Протокол 3. Порошковые молочные продукты (включая молочные детские смеси и детские смеси на основе сои).	25 г	225 мл BPW ISO	37	20-26	20
Протокол 4. Продукты с содержанием какао (порошки, шоколад, кондитерские изделия и т. д.).	25 г	225 мл стерильного обезжиренного сухого молока (100 г/л) с 0,002 % красителя «бриллиантовый зеленый» ^(d, e, f)	37	24-30	20
Протокол 5. Прочее, включая: специи, ароматические травы, концентраты, растворимые чай и кофе, бульонные кубики	25 г	235 мл BPW ISO двойной концентрации с 0,5 % K ₂ SO ₃ + 240 мл стерильного обезжиренного сухого молока (100 г/л) ^(d, g, h)	37	24-30	10
Протокол 6. Грецкий орех или ореховые смеси, содержащие грецкий орех (этот протокол подходит для других орехов, включая пекан, миндаль, фисташки, кешью, каштан, орех макадамии, бразильский орех, соевый орех и арахис).	25 г	225 мл стерильного обезжиренного сухого молока (100 г/л) ^(d, h)	37	18-24	20

- (a) Объем пробы, перемещенной в пробирки с раствором для лизиса. См. этап 4.6 раздела «Лизис».
- (b) Примеры продуктов для тестирования по протоколу 1: готовые к употреблению блюда, готовые салаты, заварной крем.
- (c) Примеры продуктов для тестирования по протоколу 2: сырое мясо, замороженные овощи, все сорта сыра, кисло-молочные продукты, сырой салат (латук, батавия).
- (d) Обезжиренное ультрапастеризованное молоко можно заменить обезжиренным сухим молоком.
- (e) 0,45 мл 1%-го водного раствора красителя «бриллиантовый зеленый» на 225 мл обезжиренного ультрапастеризованного молока, в результате чего конечная концентрация красителя «бриллиантовый зеленый» составит 0,002 % (0,02 г/л).
- (f) Для приготовления стерильного обезжиренного сухого молока взвесьте 100 г обезжиренного сухого в 1 л дистиллированной или очищенной воды. Взболтайте до растворения. Автоклавируйте в течение 15 минут при температуре 121 °С. Храните при температуре 2–30 °С⁽¹⁰⁾.
- (g) 5 г K₂SO₃ на 1000 мл BPW ISO, в результате чего конечная концентрация K₂SO₃ составит 0,5 %.
- (h) 240 мл стерильного обезжиренного сухого молока (100 г/л) необходимо добавить к 235 мл BPW ISO 2-ной концентрации с 0,5 % K₂SO₃.

В случае применения необязательного этапа вторичного обогащения, например с использованием среды Раппопорта — Вассилиадиса, требуется выполнить растворение в отношении 1:2 (1 часть пробы в 1 части стерильного обогатительного бульона) либо просто перенести 10 мкл вторичной обогатительной среды в пробирки с раствором для лизиса 3М. В случае использования тетрационатного (ТТ) бульона перенесите 20 мкл вторичной обогатительной среды в пробирки с раствором для лизиса 3М и при этом не встряхивайте обогатительную среду ТТ и не забирайте пробы пипеткой со дна пробирки с обогатительной средой во избежание переноса осадка.

Особые инструкции к утвержденным методам

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2016.01

AOAC® Performance TestedSM, сертификат № 091501



В программах AOAC Research Institute OMASM и PTMSM комплект «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» оказался эффективным для обнаружения *Salmonella*. Тестируемые во время исследования матрицы показаны в таблице 3.

Таблица 3. Протоколы обогащения согласно АОАС ОМАSM 2016.01 АОАС РТМSM, сертификат № 091501. Объем пробы, перемещенной в пробирки с раствором для лизиса 3М, составляет 20 мкл.

Матрица пробы		Размер пробы	Объем обогатительного бульона	Температура обогащения (±1 °С)	Время обогащения (ч)
Сырой говяжий фарш	25 г	225 мл BPW ISO (предварительный нагрев)	41,5	10-24	
	325 г	975 мл BPW ISO (предварительный нагрев)			
Сырой куриный фарш	25 г	225 мл BPW ISO (предварительный нагрев)	41,5	10-24	
	325 г	975 мл BPW ISO (предварительный нагрев)	41,5	14-24	
Приготовленная в панировке курица	325 г	2925 мл BPW ISO	37	18-24	
Сухой корм для собак	25 г	225 мл BPW ISO	37	18-24	
	375 г	1500 мл BPW ISO			
Черный перец, сырые целые креветки, сырой упакованный шпинат, пастеризованный американский сыр, подвергшийся технологической обработке	25 г	225 мл BPW ISO	37	18-24	
Среда после промывания куриной тушки	30 мл	30 мл BPW ISO (предварительный нагрев)	41,5	18-24	
Губка после обтирания куриной тушки	1 губка	50 мл BPW ISO (предварительный нагрев)	41,5	18-24	
Быстрорастворимое обезжиренное сухое молоко	25 г	225 мл BPW ISO	37	20-24	
Какао-порошок	25 г	225 мл BPW ISO	37	24-28	
Пастеризованная яичная масса из цельного яйца	100 мл	900 мл BPW ISO	37	18-24	
Отработанная вода для полива или орошения	375 мл	3375 мл BPW ISO	37	18-24	
Кремообразное арахисовое масло	25 г	225 мл BPW ISO	37	18-24	
	375 г	3375 мл BPW ISO			
Окружающая среда	Герметизированный бетон	1 губка	225 мл BPW ISO (предварительный нагрев)	41,5	18-24
	Нержавеющая сталь	1 тампон	10 мл BPW ISO (предварительный нагрев)	41,5	18-24
	Герметизированная керамическая плитка	1 губка	50 мл BPW ISO (предварительный нагрев)	41,5	18-24

NF VALIDATION от AFNOR Certification



ЗМ 01/16-11/16

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

<http://nf-validation.afnor.org/en>

Более подробную информацию о сроке действия см. в сертификате NF VALIDATION, который доступен на указанном выше веб-сайте.

Метод с сертификатом NF VALIDATION, соответствующий стандарту ISO 16140-2⁽⁷⁾, по сравнению со стандартом ISO 6579⁽³⁾

Объект проверки: все пробы пищевых продуктов для людей и пробы окружающей среды (за исключением проб первичной продукции)

Подготовка образца: подготовка проб проводится в соответствии со стандартами EN ISO 6579⁽³⁾ и EN ISO 6887⁽⁸⁾

Версия программного обеспечения: см. сертификат

Таблица 4. Протоколы обогащения согласно методу с сертификатом NF VALIDATION ЗМ 01.16–11.16.

Протокол	Размер пробы	Объем обогатительного бульона	Температура обогащения (+1 °С)	Время обогащения (ч)	Анализируемый объем пробы (мкл) ^(а)
Протокол 1. <ul style="list-style-type: none"> Широкий ряд пищевых продуктов, подвергшихся технологической обработке (за исключением яичного порошка, фруктов и овощей, подвергшихся технологической обработке, и продуктов, указанных в других протоколах). Вся рыба и сырые морепродукты. 	25 г	225 мл в забуференной пептонной воде (BPW) (без предварительного нагрева)	37	18–26	20
Протокол 2. <ul style="list-style-type: none"> Широкий ряд сырых и не подвергавшихся технологической обработке пищевых продуктов (за исключением сырой рыбы, сырых морепродуктов и продуктов, указанных в других протоколах). Яичные порошки. Все фрукты и овощи. Пробы среды производства пищевых продуктов. 	25 г, 1 салфетка или 1 тампон	225 мл в BPW (предварительный нагрев)	41,5	18–26	20
Протокол 3. <ul style="list-style-type: none"> Порошковые молочные продукты. 	25 г	225 мл в BPW	37	20–26	20
Протокол 4. <ul style="list-style-type: none"> Продукты с содержанием какао не менее 20 %. 	25 г	225 мл в обезжиренном ультрапастеризованном молоке + 0,002 % красителя «бриллиантовый зеленый»	37	24–30	20
Протокол 5. <ul style="list-style-type: none"> Специи, ароматические травы, концентраты, чай, кофе, готовые кулинарные изделия. 	25 г	235 мл в BPW двойной концентрации + K ₂ SO ₃ 0,5 % + 240 мл обезжиренного ультрапастеризованного молока	37	24–30	10
Протокол 6. <ul style="list-style-type: none"> Сырое мясо. 	25 г	225 мл в BPW (предварительный нагрев)	41,5	10–24	20

(а) Объем пробы, перемещенной в пробирки с раствором для лизиса. См. этап 4.6 раздела **Лизис**.

ПРИМЕЧАНИЯ.

- Во время исследования NF VALIDATION пробы больше 25 г не тестировались.
- Рекомендуемые точки прерывания выполнения протокола — после обогащения или после лизиса пробы. Обогажительный бульон или лизат пробы можно хранить при температуре 2–8 °С в течение не более 72 часов. После извлечения обогажительного бульона из хранилища продолжите тестирование с этапа 1, указанного в разделе **Лизис**. После извлечения лизата пробы из хранилища продолжите тестирование с этапа 7, указанного в разделе **Лизис**.

Подготовка лотка быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ™

1. Смочите кусок ткани или одноразовое полотенце в растворе бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) и протрите им лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ™.
2. Сполосните водой лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ.
3. Протрите лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ досуха одноразовым полотенцем.
4. Перед использованием лотка быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ убедитесь в том, что он сухой.

Подготовка блока «ЗМ™ Молекулярная диагностика. Охлаждающий блок (вставной)»

Поместите блок «ЗМ™ Молекулярная диагностика. Охлаждающий блок (вставной)» на лабораторный стол. При этом лоток «ЗМ Молекулярная диагностика. Лоток для охлаждающего блока» не используется. Блок следует использовать при температуре окружающей среды в лаборатории (20–25 °С).

Подготовка внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики ЗМ™

Поместите внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики ЗМ™ в сухое двухблочное нагревательное устройство. Включите сухое нагревательное устройство и установите температуру таким образом, чтобы температура внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики ЗМ достигла постоянного значения 100 ± 1 °С.

ПРИМЕЧАНИЕ. Внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики ЗМ достигает нужной температуры примерно за 30 минут (в зависимости от типа нагревательного устройства). Используя подходящий откалиброванный термометр (например, термометр частичного погружения, термопарный цифровой термометр, но не термометр полного погружения), размещенный в указанном месте, убедитесь в том, что температура внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики ЗМ составляет 100 ± 1 °С.

Подготовка прибора для молекулярной диагностики ЗМ™

1. Запустите программное обеспечение для молекулярной диагностики ЗМ™ и войдите в систему. Чтобы убедиться в наличии самой последней версии программного обеспечения, обратитесь к представителю ЗМ Food Safety.
2. Включите прибор для молекулярной диагностики ЗМ.
3. Создайте или отредактируйте цикл с данными относительно каждой пробы. Более подробные сведения см. в руководстве пользователя системы молекулярной диагностики ЗМ.

ПРИМЕЧАНИЕ. Прежде чем вставлять лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ с реакционными пробирками в прибор для молекулярной диагностики ЗМ, убедитесь в том, что в приборе установилась постоянная температура в 60 °С. Прибор нагревается приблизительно за 20 минут. На процесс нагрева указывает ОРАНЖЕВЫЙ световой индикатор на панели состояния прибора. Когда прибор будет готов к запуску цикла, цвет панели состояния изменится на ЗЕЛЕНЫЙ.

Лизис

1. Пробирки с раствором для лизиса ЗМ должны нагреться: для этого оставьте штатив в условиях комнатной температуры (20–25 °С) на ночь (16–18 часов). Альтернативный способ довести пробирки с раствором для лизиса ЗМ до комнатной температуры: поместить пробирки с раствором для лизиса ЗМ на лабораторный стол минимум на 2 часа, обработать пробирки с раствором для лизиса ЗМ в инкубаторе при температуре 37 ± 1 °С в течение 1 часа или поместить их на 30 секунд в сухое двухблочное нагревательное устройство при температуре 100 °С.
2. Переверните запечатанные пробирки для смешивания содержимого. Перейдите к следующему этапу через 4 часа.
3. Извлеките обогажительный бульон из инкубатора.
4. На каждую пробу, а также пробу для отрицательного контроля (в стерильной обогажительной среде) требуется одна пробирка с раствором для лизиса ЗМ.

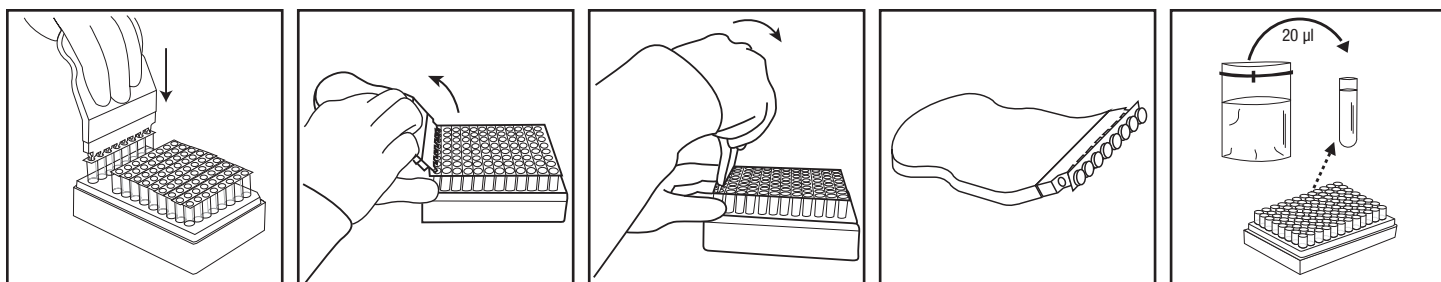
Дистрибьютор продукции ЗМ - ООО "МикроБио"

123060, Москва, 1-Волоколамский проезд, д.10, Тел. (495) 221-20-26, info@mibio.ru, www.mibio.ru

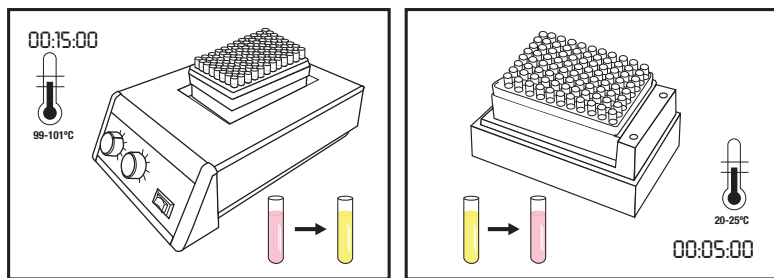
- 4.1. Для получения необходимого количества пробирок с раствором для лизиса 3М пластинки с пробирками 3М можно разрезать. Выберите необходимое количество отдельных пробирок или пластинок по 8 пробирок с раствором для лизиса 3М. Поместите пробирки с раствором для лизиса 3М в пустой штатив.
- 4.2. Во избежание перекрестного загрязнения распечатывайте пластинки с пробирками с раствором для лизиса 3М по одной за раз и для каждого этапа переноса используйте новый наконечник для пипетки.
- 4.3. Перенесите обогащенную пробу в пробирки для лизиса 3М согласно приведенному ниже описанию.

В первую очередь перенесите каждую обогащенную пробу в отдельную пробирку с раствором для лизиса 3М. Пробы для отрицательного контроля переливайте **в последнюю очередь**.

- 4.4. Распечатывайте пробирки с раствором для лизиса 3М на одной пластинке с помощью инструмента «3М™ Молекулярная диагностика. Инструмент для запечатывания/распечатывания пробирок (Лизис)». Пластины с пробирками следует распечатывать по одной за раз.
- 4.5. Выбросьте колпачок от пробирки с раствором для лизиса 3М. Если лизат необходимо сохранить для повторного тестирования, поместите колпачки в чистый контейнер для повторного использования после лизиса.
 - 4.5.1. Процедура обработки сохраненного лизата описана в приложении А.
- 4.6. Перенесите 20 мкл пробы в пробирку с раствором для лизиса 3М, если другое не указано в таблице с протоколами (в качестве примера см. протокол 5).
5. Повторяйте действие 4.3 до тех пор, пока каждая отдельная проба не будет перелита в соответствующую пробирку с раствором для лизиса 3М на пластинке.



6. Повторите шаги 4.1–4.6 столько раз, сколько проб необходимо протестировать.
7. После переноса всех проб перенесите в пробирку с раствором для лизиса 3М 20 мкл среды для отрицательного контроля (стерильной обогатительной среды, например BPW). Не используйте воду в качестве среды для отрицательного контроля.
8. Убедитесь в том, что температура внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики 3М составляет 100 ± 1 °C.
9. Поместите штатив с открытыми пробирками для лизиса 3М во внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики 3М и нагревайте в течение 15 ± 1 минуты. Во время нагрева цвет раствора для лизиса 3М изменится с розового (в холодном состоянии) на желтый (в горячем состоянии).
Пробы, которые не прошли надлежащую тепловую обработку на этапе лизиса, могут представлять биологическую опасность. ЗАПРЕЩАЕТСЯ вставлять их в прибор для молекулярной диагностики 3М.
10. Извлеките штатив с открытыми пробирками для лизиса 3М из нагревательного блока и поместите его для охлаждения в блок «3М Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)» на период от 5 до 10 минут. Блок «3М Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)», используемый при температуре окружающей среды без лотка «Молекулярная диагностика. Лоток для охлаждающего блока», должен находиться непосредственно на лабораторном столе. После охлаждения цвет раствора для лизиса снова станет розовым.
11. Извлеките штатив с пробирками для лизиса 3М из блока «3М Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)».

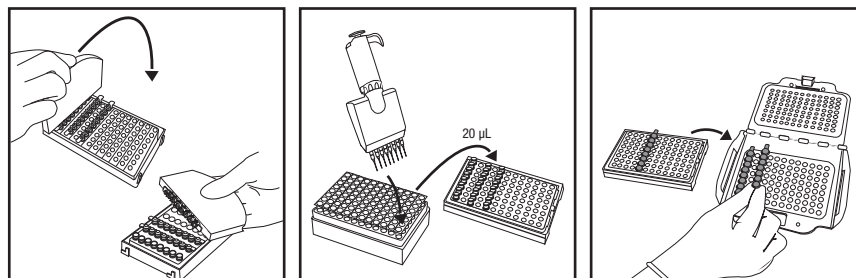


Аmplификация

1. На каждую пробу, а также пробу для отрицательного контроля требуется одна пробирка с реагентом «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*».
 - 1.1. Для получения нужного количества пробирок пластинки с пробирками можно разрезать. Выберите необходимое количество отдельных пробирок или пластинок по 8 пробирок «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*».
 - 1.2. Поместите пробирки с реагентом в пустой штатив.
 - 1.3. Не поднимайте осадок от реагента, который может образоваться на дне пробирок.
2. Выберите одну пробирку «3М Контроль реагентов» и поместите ее в штатив.
3. Во избежание перекрестного загрязнения распечатывайте пластинки с пробирками с реагентом по одной за раз и для каждого этапа переноса используйте новый наконечник для пипетки.
4. Перенесите каждый из лизатов в пробирку с реагентом «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» и пробирку 3М Контроль реагентов» согласно приведенному ниже описанию.

В первую очередь перелейте лизат всех проб в отдельные пробирки с реагентами. Затем перелейте среду для отрицательного контроля. Смочите пробирку «3М Контроль реагентов» **в последнюю очередь**.

5. Распечатайте пробирку с раствором «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» с помощью инструмента «3М™ Молекулярная диагностика. Инструмент для запечатывания/распечатывания пробирок (Реагент)». Пластины с пробирками следует распечатывать по одной за раз. Выбросьте колпачки.
 - 5.1. **Перенесите 20 мкл лизата пробы из верхней половины пробирки с раствором для лизиса 3М (не допуская попадания осадка) в соответствующую пробирку с реагентом «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*».** Переливать лизат в пробирку следует под наклоном, чтобы не поднять осадок. Перемешайте лизат в пробирке: для этого 5 раз осторожно наберите и выпустите жидкость из пипетки.
 - 5.2. Повторяйте этап 5.1 до тех пор, пока лизат каждой пробы не будет перелит в соответствующую пробирку с реагентом «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» на пластинке.
 - 5.3. Закройте пробирки с реагентом «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» запасными колпачками в комплекте и надавите скругленной стороной инструмента «3М Молекулярная диагностика. Инструмент для запечатывания/распечатывания пробирок (Реагент)», совершая движения вперед-назад, чтобы обеспечить плотную посадку колпачков.
 - 5.4. Повторите этапы 5.1–5.3 столько раз, сколько проб необходимо протестировать.
 - 5.5. После переноса лизатов всех проб повторите этапы 5.1–5.3, чтобы перенести 20 мкл лизата для отрицательного контроля в пробирку с реагентом «3М Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*».
 - 5.6. Перенесите **20 мкл лизата для отрицательного контроля в пробирку «3М Контроль реагентов».** Переливать лизат в пробирку следует под наклоном, чтобы не поднять осадок. Перемешайте лизат в пробирке с помощью пипетки (наберите и выпустите жидкость из пипетки 5 раз).
6. Загрузите запечатанные пробирки в чистый продезинфицированный лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики 3М, после чего закройте и зафиксируйте крышку.



7. Проверьте параметры настройки цикла в программном обеспечении для молекулярной диагностики ЗМ.
8. Нажмите кнопку запуска в программном обеспечении и выберите прибор, который необходимо использовать. Крышка выбранного прибора откроется автоматически.
9. Поместите лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ в прибор для молекулярной диагностики ЗМ и закройте крышку, чтобы запустить анализ. Результаты появятся в течение 60 минут. Положительные результаты могут появиться раньше.
10. По завершении анализа диагностики извлеките лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ из прибора для молекулярной диагностики ЗМ и утилизируйте пробирки, поместив их в раствор бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) на 1 час вдали от области подготовки проб для анализа.

УВЕДОМЛЕНИЕ. Для минимизации риска получения ложноположительных результатов вследствие перекрестного загрязнения ни в коем случае не открывайте пробирки с реагентом, содержащие амплифицированную ДНК. Это касается пробирки с реагентом «ЗМ Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*», пробирки «ЗМ Контроль реагентов» и пробирок контроля матрицы ЗМ. Запечатанные пробирки с реагентами следует выдерживать в растворе бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) в течение 1 часа вдали от зоны проведения анализа.

Результаты диагностики и их интерпретация

Специальный алгоритм анализирует кривую светоотдачи, выводимую в результате обнаружения амплификации нуклеотидных последовательностей. Программное обеспечение автоматически анализирует полученные данные и снабжает их цветовыми кодами. Положительный или отрицательный результат определяется путем анализа ряда уникальных параметров кривой. Предположительно положительные результаты отображаются в реальном времени, а отрицательные результаты и данные, требующие изучения, — по окончании анализа.

Предположительно положительные результаты следует подтверждать в соответствии со стандартными лабораторными процедурами или подходящим эталонным методом^(1, 2, 3). Для этого выполняется переливание из первичной обогатительной среды ЗМ BPW ISO во вторичный обогатительный бульон с последующим культивированием и подтверждением изолятов с использованием соответствующих биохимических и серологических методов.

ПРИМЕЧАНИЕ. Результаты анализа не могут быть нулевыми даже в случае исследования отрицательной пробы, поскольку система и амплификационные реагенты из комплекта «ЗМ Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*» способны считывать показания RLU (относительная световая единица).

В редких случаях получения необычных световых данных алгоритм заносит соответствующие результаты в категорию информации, требующей изучения. Компания ЗМ рекомендует проводить повторный анализ проб, требующих изучения. Если результат анализа не меняется, проверьте его предпочтительным для вас методом или в соответствии с местными нормативными требованиями.

Подтверждение результатов в соответствии с методом, получившим сертификат NF VALIDATION

В рамках NF VALIDATION все пробы, определенные как положительные по результатам тестов с использованием комплекта «ЗМ Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*», должны подтверждаться с помощью одного из указанных ниже тестов.

Вариант 1. Применение стандарта ISO 6579⁽³⁾, начиная с обогащения забуференной пептонной воды⁽³⁾.

Вариант 2. Реализация метода подтверждения, состоящая из указанных далее действий. Перенесите 0,1 мл обогатительной забуференной пептонной воды⁽³⁾ в 10 мл бульона RVS. Инкубируйте в течение 24 ± 3 ч при температуре 41,5 °С. Штриховым движением нанесите полученный состав на ксилоза-лизин-деоксихолатный (XLD)⁽³⁾ агар или на хромогенный агар, специфичный для *Salmonella*. Выполните латекс-агглютинацию, используя латексный тест Oxoid *Salmonella* непосредственно на изолированных колониях.

Вариант 3. Использование зондов для нуклеиновой кислоты в соответствии с описанием, указанным в стандарте EN ISO 7218⁽⁵⁾; процедура проводится на изолированных колониях, из агара XLD или хромогенного агара (см. вариант 1 или 2). Не выполняйте этот тест с помощью комплекта «ЗМ Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*».

Вариант 4. Использование любого другого метода с сертификатом NF VALIDATION, принцип которого должен отличаться от тестов с применением комплекта «ЗМ Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*». Необходимо использовать весь протокол, описанный для второго утвержденного метода. Все этапы перед началом подтверждения должны быть общими для обоих методов.

В случае противоречивых результатов (предположительно положительных результатов тестов с использованием комплекта «ЗМ Молекулярный анализ 2 - *Salmonella*», не подтвержденных одним из описанных выше способов; в частности, в случае реакции латекс-агглютинации) сотрудники лаборатории обязаны

выполнить необходимые действия, чтобы гарантировать действительность полученных результатов.

Если у вас возникли вопросы по определенным способам применения или процедурам, посетите наш веб-сайт по адресу www.3M.com/foodsafety или обратитесь к местному представителю или дистрибьютору компании 3M.

Приложение А. Прерывание выполнения протокола: хранение и повторное тестирование лизатов, подвергшихся термообработке

1. Для хранения подвергшихся термообработке лизатов обратно запечатайте пробирку с раствором для лизиса чистым колпачком (см. раздел 4.5 **Лизис**).
2. Отправьте пробу на хранение при температуре от 4 до 8 °C на период до 72 часов.
3. Подготовьте сохраненную пробу для амплификации, перевернув пробирку 2–3 раза для перемешивания.
4. Распечатайте пробирки.
5. Поместите пробирки со смешанным лизатом во внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики 3M и подогрейте до температуры 100 ± 1 °C в течение 5 ± 1 минуты.
6. Извлеките штатив с пробирками с раствором для лизиса 3M из нагревательного блока и поместите его для охлаждения в блок «3M Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)» на период от 5 до 10 минут.
7. Продолжите выполнение протокола в соответствии с разделом **Амплификация**, как описано выше.

Справочная литература.

1. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США. Руководство по бактериологическому анализу. Глава 5. *Salmonella*, раздел C-24. Версия от ноября 2011 года.
2. Лабораторное руководство по микробиологии 4.05 Службы безопасности и контроля продуктов питания Министерства сельского хозяйства США (USDA). Изоляция и идентификация *Salmonella* в мясе, птице, пастеризованных яйцах и сомообразных. Дата вступления в силу: 20 января 2011 года.
3. ISO 6579. Микробиология пищи и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения видов *Salmonella*.
4. ISO/IEC 17025. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий.
5. ISO 7218. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие правила микробиологического анализа.
6. Аттестация установленного оборудования (IQ) и аттестация функционирующего оборудования (OQ) 3M: протоколы и инструкции для системы молекулярной диагностики 3M. Для получения копии этого документа обратитесь к представителю 3M Food Safety.
7. ISO 16140. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Протокол утверждения альтернативных методов.
8. ISO 6887. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для анализа, исходная суспензия и десятичное разведение для микробиологического анализа.
9. ISO 18593. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальные методы забора проб с поверхностей с помощью пластин и тампонов.
10. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США. *Руководство по бактериологическому анализу*, среда M111: обезжиренное сухое молоко (восстановленное). Январь 2011 года.

Пояснение символов

www.3M.com/foodsafety/symbols