





















-  (EN) Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7)
-  (FR) Kit de détection moléculaire 2 – *E. coli* O157 (incluant H7)
-  (DE) Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2
-  (IT) Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7)
-  (ES) Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7)
-  (NL) Moleculaire Detectieanalyse 2 *E. coli* O157 (inclusief H7)
-  (SV) Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7)
-  (DA) Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7)
-  (NO) Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7)
-  (FI) Molekyläärinen testisetti 2 – *E. coli* O157 (sisältäen H7)
-  (PT) Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7)
-  (EL) Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7)
-  (PL) Molekularny test do wykrywania 2 — *E. coli* O157 (w tym H7)
-  (RU) Молекулярная диагностика 2 - *E. coli* O157 (Включая H7)
-  (TR) Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil)
-  (JA) 病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む)
-  (ZH) 大肠杆菌O157 (包括H7) 分子检测分析 2
-  (TH) ชุดทดสอบเชื้ออีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2
-  (KO) 병원성대장균용(o157:h7 포함) 분자 검출 키트 2
-  (ID) Deteksi Molekuler untuk Pengujian 2 *E. coli* O157 (Termasuk H7)

2

Product Instructions

Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7)

Product Description and Intended Use

The 3M™ Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) is used with the 3M™ Molecular Detection System for the rapid and specific detection of *E. coli* O157 (including H7) in enriched food and feed samples.

The 3M Molecular Detection Assays use loop-mediated isothermal amplification to rapidly amplify nucleic acid sequences with high specificity and sensitivity, combined with bioluminescence to detect the amplification. Presumptive positive results are reported in real-time while negative results are displayed after the assay is completed. Presumptive positive results should be confirmed using your preferred method or as specified by local regulations^(1, 2, 3).

The 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) is intended for use in a laboratory environment by professionals trained in laboratory techniques. 3M has not documented the use of this product in industries other than food or beverage. For example, 3M has not documented this product for testing environmental, pharmaceutical, cosmetics, clinical or veterinary samples. The 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) has not been evaluated with all possible food products, food 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. 3M recommends evaluation of the method including enrichment medium, in the user's environment using a sufficient number of samples with particular foods and microbial challenges to ensure that the method meets the user's criteria.

3M has evaluated the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) with Buffered Peptone Water ISO.

The 3M™ Molecular Detection Instrument is intended for use with samples that have undergone heat treatment during the assay lysis step, which is designed to destroy organisms present in the sample. Samples that have not been properly heat treated during the assay lysis step may be considered a potential biohazard and should NOT be inserted into the 3M Molecular Detection Instrument.

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

The 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) test kit contains 96 tests, described in Table 1.

Table 1. 3M Molecular Detection Assay Kit Components

Item	Identification	Quantity	Contents	Comments
3M™ Lysis Solution (LS)	Pink solution in clear tubes	96 (12 strips of 8 tubes)	580 µL of 3M Lysis Solution per tube	Racked and ready to use
3M™ Molecular Detection Assay 2 - <i>E. coli</i> O157 (including H7) Reagent Tubes	Pink tubes	96 (12 strips of 8 tubes)	Lyophilized specific amplification and detection mix	Ready to use
Extra caps	Pink caps	96 (12 strips of 8 caps)		Ready to use
3M™ Reagent Control (RC)	Clear flip-top tubes	16 (2 pouches of 8 individual tubes)	Lyophilized control DNA, amplification and detection mix	Ready to use
Quick Start Guide		1		

The Negative Control, not provided in the kit, is a sterile enrichment medium, e.g., 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 3M Molecular Detection System and the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7). 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.

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

▲ WARNING

Do not use the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) 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⁽⁴⁾, or ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Follow the protocol and perform the tests exactly as stated in the product instructions.
- Use medium pre-warmed to 41.5 ± 1°C. Do not allow the medium to drop below the incubation temperature range during sample preparation.
- Store the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) as indicated on the package and in the product instructions.
- Always use the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) by the expiration date.
- Use the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) with food, feed and food process environmental samples that have been validated internally or by a third party.
- Use the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) only with surfaces, sanitizers, protocols and bacterial strains that have been validated internally or by a third party.
- For an environmental sample containing Neutralizing Buffer (NB) with aryl sulfonate complex, perform a 1:2 dilution before testing (1 part sample into 1 part sterile enrichment broth). Another option is to transfer 10 µL of the neutralizing buffer enrichment into the 3M Lysis Solution tubes. 3M™ Sample Handling products which include 3M™ Neutralizing Buffer with aryl sulfonate complex: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB and HS119510NB.

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.
- 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 and associated contaminated waste according to current local/regional/national/industry standards.
- Do not exceed the recommended temperature setting on heater.
- Do not exceed the recommended heating time.
- Use an appropriate, calibrated thermometer to verify the 3M™ Molecular Detection Heat Block Insert temperature (e.g., a partial immersion thermometer or digital thermocouple thermometer, not a total immersion thermometer). The thermometer must be placed in the designated location in the 3M Molecular Detection Heat Block Insert.

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 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 3M™ Molecular Detection Heat Block Insert temperature (e.g., a partial immersion thermometer or digital thermocouple thermometer, not a total immersion thermometer). The thermometer must be placed in the designated location in the 3M Molecular Detection Heat Block Insert.

NOTICE

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

- Use of sterile, aerosol barrier (filtered), molecular biology grade pipette tips is recommended.
- Use a new pipette tip for each sample transfer.
- Use Good Laboratory Practices to transfer the sample from the enrichment to the lysis tube. To avoid pipettor contamination, the user may choose to add an intermediate transfer step. For example, the user can transfer each enriched sample into a sterile tube.
- Use a molecular biology workstation containing germicidal lamp where available.

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

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

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

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

User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at www.3M.com/foodsafety, or contact your local 3M representative or distributor for more information.

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

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

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

As with any test method, results obtained from use of any 3M Food Safety product do not constitute a guarantee of the quality of the matrices or processes tested.

To help customers evaluate the method for various food matrices, 3M has developed the 3M™ Molecular Detection Matrix Control kit. When needed, use the Matrix Control (MC) to determine if the matrix has the ability to impact the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) results. Test several samples, representative of the matrix, i.e. samples obtained from different origin, during any validation period when adopting the 3M method or when testing new or unknown matrices or matrices that have undergone raw material or process changes.

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

Limitation of Warranties / Limited Remedy

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

Limitation of 3M Liability

3M WILL NOT BE LIABLE FOR ANY LOSS OR DAMAGES, WHETHER DIRECT, INDIRECT, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOST PROFITS. In no event shall 3M's liability under any legal theory exceed the purchase price of the product alleged to be defective.

Storage and Disposal

Store the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) at 2-8°C. Do not freeze. Keep kit away from light during storage. After opening the kit, check that the foil pouch is undamaged. If the pouch is damaged, do not use. After opening, unused reagent tubes should always be stored in the re-sealable pouch with the desiccant inside to maintain stability of the lyophilized reagents. Store resealed pouches at 2-8°C for no longer than 60 days.

Do not use 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) past the expiration date. Expiration date and lot number are noted on the outside label of the box. After use, the enrichment medium and the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) 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.

The user should complete the 3M Molecular Detection System operator qualification training, as described in the "Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for 3M Molecular Detection System" document⁽⁷⁾.

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.

See Section "Specific Instructions for validated methods" for specific requirements:

Table 3 for enrichment protocols according to AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

Table 4 for enrichment protocols according to NF Validation certificate 3M 01/18-05/17

Sample Enrichment

Tables 2, 3 or 4 present guidance for enrichment protocols for food. 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. Pre-warm BPW ISO enrichment medium to 41.5 ± 1°C.
2. Aseptically combine the enrichment medium and sample according to Tables 2, 3 or 4. For all meat and highly particulate samples, the use of filter bags is recommended.
3. Homogenize all matrices except leafy produce and fruit, thoroughly by blending, stomaching, or hand mixing for 2 ± 0.2 minutes. Incubate at 41.5 ± 1°C for the appropriate time according to Tables 2, 3 or 4.

Table 2. General enrichment protocols

Sample Matrix ^(a)	Sample Size	Enrichment Broth Volume (mL)	Enrichment Temperature (±1°C)	Enrichment Time (hours)
Raw beef including ground/mince and trim	325 g	975 BPW ISO (pre-warmed)	41.5	10-18
Raw meats including raw beef, pork, poultry, lamb, and bison	25 g	225 BPW ISO (pre-warmed)	41.5	8-18
Leafy produce ^(b)	200 g	450 BPW ISO (pre-warmed)	41.5	18-24
Other foods including fruit ^(b) , vegetables, fruit/vegetable juices, fresh herbs, raw seafood, raw eggs, raw milk, cookie dough, and processed meats	25 g	225 BPW ISO (pre-warmed)	41.5	18-24
Walnuts or nut mixes containing walnuts (this protocol is appropriate for other nuts including pecans, almonds, pistachios, cashews, and chestnuts,	25 g	225 reconstituted non-fat dry milk	41.5	18-24

(a) Frozen samples should be equilibrated to 4-8°C before addition to enrichment broth.

(b) Leafy produce and fruit samples should be gently agitated by hand for 5 minutes. Do not blend or stomach.

Specific Instructions for Validated Methods

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

In AOAC Official Method of AnalysisSM program, the 3M Molecular Detection Assay 2 – *E. coli* O157 (including H7) was found to be an effective method for the detection of *E. coli* O157:H7. The matrices tested in the study are shown in Table 3.

Table 3. Enrichment protocols using pre-warmed BPW ISO at 41.5 ± 1°C according to AOAC® Official MethodsSM 2017.01

Sample Matrix	Sample Size	Enrichment Broth Volume (mL)	Enrichment Time (hours)	Homogenized
Raw ground beef (73% lean)	325 g	975	10-18	Manually by hand or by Stomach
Raw bagged spinach ^(a)	200 g	450	18-24	Gently agitated by hand for 5 minutes, do not homogenize
Fresh sprouts	25 g	225	18-24	Gently agitated by hand for 5 minutes, do not homogenize
Frozen blueberries ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	Gently agitated by hand for 5 minutes, do not homogenize

(a) Leafy produce and fruit samples should be gently agitated by hand for 5 minutes. Do not blend or stomach.

(b) Frozen samples should be equilibrated to 4-8°C before addition to enrichment broth.

NF Validation by AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

For more information about end of validity, please refer to NF VALIDATION certificate available on the website mentioned above.

NF VALIDATION Certified method in compliance with ISO 16140-2⁽⁸⁾ in comparison to ISO 16654⁽³⁾

Scope of the validation: Raw beef meat, raw dairy products, raw fruits and vegetables

Sample preparation: Samples should be prepared according to EN ISO 16654 and EN ISO 6887⁽⁶⁾

Software Version: See certificate

Table 4. Enrichment protocols using pre-warmed BPW ISO at 41.5 ± 1°C according to NF VALIDATION certified method 3M 01/18-05/17

Protocol	Sample Size	Enrichment Broth Volume (mL)	Enrichment Temperature (±1°C)	Enrichment Time (hours)
Raw dairy products, raw fruits and raw vegetables	25 g	225	41.5	18-24
Raw beef meat	25 g	225	41.5	8-24

NOTES:

- Samples larger than 25 g have not been tested in the NF VALIDATION study.
- The recommended protocol interruption points are after enrichment or after sample lysis. Enrichment broth or sample lysate can be stored at 2-8°C for up to 72 hours. After removing the enrichment broth from storage, resume testing from Step 1 in the **Lysis** section. After removing the sample lysate from storage, resume testing from Step 7 in the **Lysis** section. The lysate can also be stored at -20°C.
- Short enrichment protocols are sensitive to incubation conditions and the temperatures specified in the protocol must be followed. The temperature of the waterbath or the incubator where the broths are prewarmed should be verified to ensure the enrichment broth is reaching the required temperature. The total time for sample preparation, including the delay between the end of the medium pre-warming step and the beginning of incubation of the food sample, must not exceed 45 minutes. Using a ventilated incubator during incubation is recommended.

Preparation of the 3M™ 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 3M Molecular Detection Speed Loader Tray.
2. Rinse the 3M Molecular Detection Speed Loader Tray with water.
3. Use a disposable towel to wipe the 3M Molecular Detection Speed Loader Tray dry.
4. Ensure the 3M Molecular Detection Speed Loader Tray is dry before use.

Preparation of the 3M™ Molecular Detection Chill Block Insert

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

Preparation of the 3M™ Molecular Detection Heat Block Insert

Place the 3M Molecular Detection Heat Block Insert in a dry double block heater unit. Turn on the dry block heater unit and set the temperature to allow the 3M Molecular Detection Heat Block Insert to reach and maintain a temperature of 100 ± 1°C.

NOTE: Depending on the heater unit, allow approximately 30 minutes for the 3M Molecular Detection Heat Block Insert to reach temperature. Using an appropriate, calibrated thermometer (e.g., a partial immersion thermometer, digital thermocouple thermometer, not a total immersion thermometer) placed in the designated location, verify that the 3M Molecular Detection Heat Block Insert is at 100 ± 1°C.

Preparation of the 3M™ Molecular Detection Instrument

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

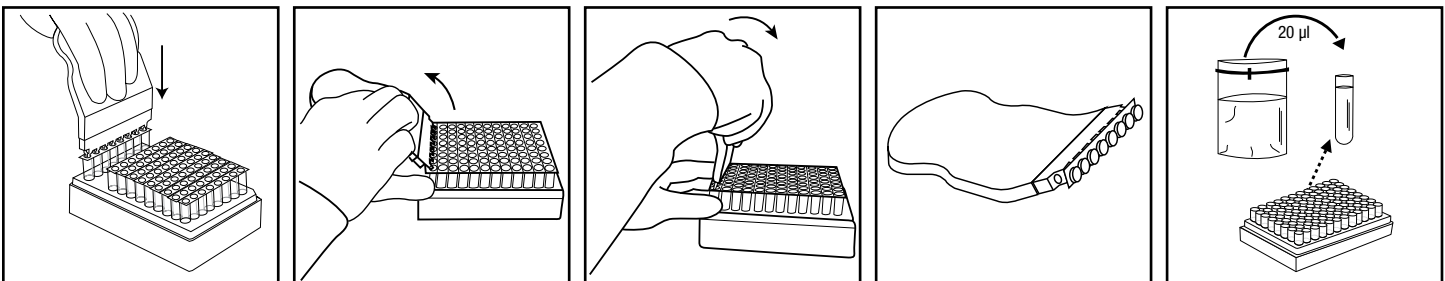
NOTE: The 3M Molecular Detection Instrument must reach and maintain temperature of 60°C before inserting the 3M Molecular Detection Speed Loader Tray with reaction tubes. This heating step takes approximately 20 minutes and is indicated by an ORANGE light on the instrument's status bar. When the instrument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

Lysis

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

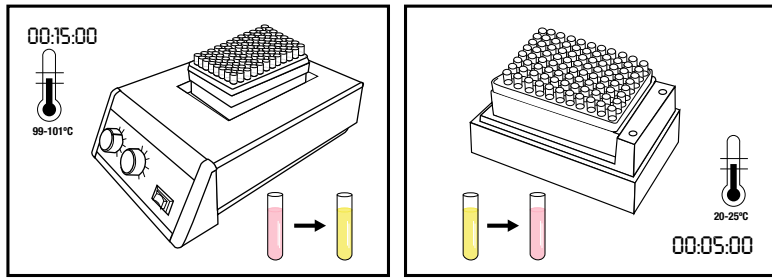
Transfer each enriched sample into an individual 3M Lysis Solution tube **first**. Transfer the NC **last**.

- 4.4 Use the 3M™ Molecular Detection Cap/Decap Tool-Lysis to decap one 3M Lysis Solution tube strip - one strip at a time.
- 4.5 Discard the 3M Lysis Solution tube cap – If lysate will be retained for retest, place the caps into a clean container for re-application after lysis.
 - 4.5.1 For processing of retained lysate, see Appendix A.
- 4.6 Transfer 20 µL of sample into a 3M Lysis Solution tube unless otherwise indicated in the Protocol Tables 2, 3, and 4.



5. Repeat step 4.3 until each individual sample has been added to a corresponding 3M Lysis Solution tube in the strip.
6. Repeat steps 4.1 to 4.6 as needed, for the number of samples to be tested.
7. When all samples have been transferred, transfer 20 µL of NC (sterile enrichment medium e.g. BPW ISO) into a 3M Lysis Solution tube. Do not use water as a NC.
8. Verify that the temperature of the 3M Molecular Detection Heat Block Insert is at 100 ± 1°C.
9. Place the uncovered rack of 3M Lysis Solution tubes in the 3M Molecular Detection Heat Block Insert and heat for 15 ± 1 minutes. During heating, the 3M Lysis solution will change from pink (cool) to yellow (hot).
Samples that have not been properly heat treated during the assay lysis step may be considered a potential biohazard and should NOT be inserted into the 3M Molecular Detection Instrument.
10. Remove the uncovered rack of 3M Lysis Solution tubes from the heating block and allow to cool in the 3M Molecular Detection Chill Block Insert at least 5 minutes and a maximum of 10 minutes. The 3M Molecular Chill Block Insert, used at ambient temperature without the 3M Molecular Detection Chill Block Tray, should sit directly on the laboratory bench. When cool, the lysis solution will revert to a pink color.

11. Remove the rack of 3M Lysis Solution tubes from the 3M Molecular Detection Chill Block Insert.

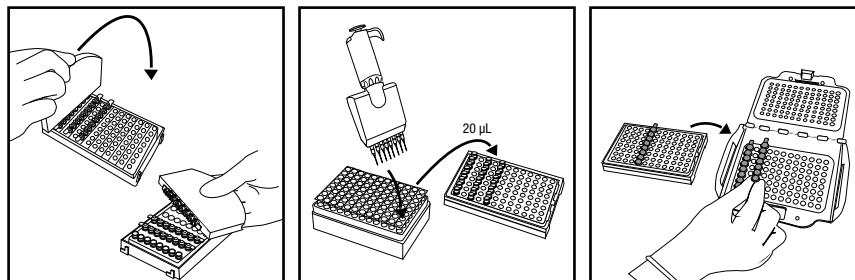


Amplification

1. One 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tube is required for each sample and the NC.
 - 1.1 Tube strips can be cut to desired tube number. Select the number of individual 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tubes or 8-tube strips needed.
 - 1.2 Place 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tubes in an empty rack.
 - 1.3 Avoid disturbing the reagent pellets from the bottom of the tubes.
2. Select one 3M Reagent Control tube and place in rack.
3. To avoid cross-contamination, decap one 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tube strip at a time and use a new pipette tip for each transfer step.
4. Transfer lysate to a 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tube and 3M Reagent Control tube as described below:

Transfer each sample lysate into individual 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tubes **first** followed by the NC. Hydrate the 3M Reagent Control tube **last**.

5. Use the 3M™ Molecular Detection Cap/Decap Tool-Reagent to decap the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tube – one tube strip at a time. Discard cap.
 - 5.1 **Transfer 20 µL of Sample lysate from the upper ½ of the liquid (avoid precipitate) in the 3M Lysis Solution tube into corresponding 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tube. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.**
 - 5.2 Repeat step 5.1 until individual sample lysate has been added to a corresponding 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tube in the strip.
 - 5.3 Cover the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tubes with the provided extra caps and use the rounded side of the 3M Molecular Detection Cap/Decap Tool-Reagent to apply pressure in a back and forth motion ensuring that the cap is tightly applied.
 - 5.4 Repeat steps 5.1 to 5.3 as needed, for the number of samples to be tested.
 - 5.5 When all sample lysates have been transferred, repeat 5.1 to 5.3 to transfer 20 µL of NC lysate into a 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tube.
 - 5.6 **Transfer 20 µL of NC lysate into a 3M Reagent Control tube.** Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.
6. Load capped tubes into a clean and decontaminated 3M Molecular Detection Speed Loader Tray. Then close and latch the lid.



7. Review and confirm the configured run in the 3M Molecular Detection Software.
8. Click the Start button in the software and select instrument for use. The selected instrument's lid automatically opens.
9. Place the 3M Molecular Detection Speed Loader Tray into the 3M Molecular Detection Instrument and close the lid to start the assay. Results are provided within 60 minutes, although positives may be detected sooner.

10. After the assay is complete, remove the 3M Molecular Detection Speed Loader Tray from the 3M Molecular Detection Instrument and dispose of the tubes by soaking in a 1-5% (v:v in water) household bleach solution for 1 hour and away from the assay preparation area.

NOTICE: To minimize the risk of false positives due to cross-contamination, never open reagent tubes containing amplified DNA. This includes 3M Reagent Control, 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) Reagent Tube, and 3M 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.

Presumptive positive samples should be confirmed as per the laboratory standard operating procedures or by following the appropriate reference method confirmation^(1,2,3), beginning with transfer from the primary BPW ISO 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 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) 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.” 3M recommends the user to repeat the assay for any Inspect samples. If the result continues to be Inspect, proceed to confirmation test using your preferred method or as specified by local regulations.

In the event of discordant results (presumptive positive with the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7), non-confirmed by one of the means described above, and in particular for the latex agglutination test), the laboratory must follow the necessary steps to ensure the validity of the results obtained.

Confirmation of Results According to the NF VALIDATION Certified Method

In the context of the NF VALIDATION, all samples identified as positive by the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) must be confirmed by one of the following tests:

Option 1: Using the ISO 16654⁽³⁾ standard starting from the buffered peptone water⁽³⁾ enrichment.

Option 2: Implementing a confirmation method consisting of the following: Streak 50 µL of the buffered peptone water⁽³⁾ enrichment onto a Cefixime Potassium Tellurite Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾ agar plate. Incubate for 24 ± 3 hours at 37°C. Streak characteristic colonies onto nutrient agar and perform latex agglutination test directly onto isolated colonies. If the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7) results are not confirmed, perform an immunomagnetic separation step and then streak 50 µL onto CT-SMAC.

Option 3: Using nucleic acid probes as described in the EN ISO 7218⁽⁵⁾ standard, performed on isolated colonies (purified or not) from CT-SMAC (see Options 1 or 2). The nucleic acid probes must be different from those used in the 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7).

Option 4: Using any other method certified NF VALIDATION, the principle of which must be different from 3M Molecular Detection Assay 2 - *E. coli* O157 (including H7). The complete protocol described for this second validated method must be used. All steps prior to the start of confirmation must be common to both methods.

In the event of discordant results (presumptive positive with the alternative method, non-confirmed by one of the means described above) the laboratory must follow the necessary steps to ensure the validity of the result obtained.

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

Appendix A. Protocol Interruption: Storage and re-testing of samples

1. To store a heat-treated lysate, re-cap the lysis tube with a clean cap (see **Lysis** section, 4.5)
2. To store an enriched sample, incubate for a minimum of 18 hours prior to storage.
3. Store at 4 to 8°C for up to 72 hours.
4. Prepare a stored sample for amplification by inverting 2-3 times to mix.
5. Decap the tubes.
6. Place the mixed lysate tubes on 3M Molecular Detection Heat Block Insert and heat at 100 ± 1°C for 5 ± 1 minutes.
7. Remove the rack of 3M Lysis Solution tubes from the heating block and allow to cool in the 3M Molecular Detection Chill Block Insert at least 5 minutes and a maximum of 10 minutes.
8. Continue the protocol at the **Amplification** section detailed above.

References:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Explanation of Symbols

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Instructions relatives au produit

Kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 (incluant H7)

Description et utilisation du produit

Le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M™ (incluant H7) est utilisé avec le système de détection moléculaire 3M™ pour une détection rapide et précise de *E. coli* O157 (incluant H7) dans les échantillons d'aliments enrichis et d'aliments pour animaux.

Les kits de détection moléculaire 3M utilisent la technique LAMP (amplification isotherme médiée par des boucles) afin d'amplifier rapidement les séquences d'acide nucléique de façon extrêmement spécifique et sensible, associée à la bioluminescence pour détecter l'amplification. Les résultats présumés positifs sont visibles en temps réel, tandis que les résultats négatifs sont affichés à la fin de l'analyse. Les résultats présumés positifs doivent être confirmés par la méthode de votre choix ou en utilisant une méthode conforme aux réglementations locales^(1, 2, 3).

Le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) est destiné à être utilisé au sein de laboratoires, par des professionnels formés aux techniques s'y rapportant. 3M n'a pas étudié l'utilisation de ce produit dans des secteurs autres que l'alimentaire et les boissons. Par exemple, 3M n'a pas étudié ce produit dans le cadre de tests sur des échantillons environnementaux, pharmaceutiques, cosmétiques, cliniques ou vétérinaires. Le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) n'a pas été évalué en utilisant tous les produits alimentaires, processus de transformation alimentaire, protocoles de test ou souches bactériennes possibles.

Comme avec toutes les méthodes de test, la source, la formulation et la qualité du milieu d'enrichissement peuvent influencer les résultats. Des facteurs tels que les méthodes d'échantillonnage, les protocoles de test, la préparation des échantillons, la manipulation et les techniques de laboratoires peuvent également influencer les résultats. 3M recommande d'évaluer la méthode, notamment le milieu d'enrichissement, dans l'environnement de l'utilisateur à l'aide d'un nombre d'échantillons suffisant et avec des charges alimentaires et microbiennes déterminés pour répondre aux critères de l'utilisateur.

3M a évalué le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) avec eau peptonée tamponnée ISO.

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

3M Sécurité Alimentaire respecte la norme ISO (International Organization for Standardization) 9001 en matière de conception et de fabrication.

Le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) contient 96 tests, décrits dans le tableau 1.

Tableau 1. Composants du kit de détection moléculaire 3M

Élément	Identification	Quantité	Table des matières	Commentaires
Solution de lyse (LS) 3M™	Solution rose en tubes transparents	96 (12 barrettes de 8 tubes)	580 µL de solution de lyse 3M par tube	Placé sur portoir et prêt à l'emploi
Tubes de réactifs pour kit de détection moléculaire 2 - <i>E. coli</i> O157 3M™ (incluant H7)	Tubes roses	96 (12 barrettes de 8 tubes)	Mélange spécifique lyophilisé pour l'amplification et la détection	Prêts à l'emploi
Bouchons supplémentaires	Bouchons roses	96 (12 barrettes de 8 bouchons)		Prêts à l'emploi
Contrôle de réactif 3M™ (RC)	Tubes « Flip-Top » transparents	16 (2 poches de 8 tubes individuels)	DNA témoin lyophilisé, mélange pour l'amplification et la détection	Prêts à l'emploi
Guide de démarrage rapide		1		

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

Sécurité

L'utilisateur doit lire, comprendre et suivre toutes les informations de sécurité mentionnées dans les instructions relatives au système de détection moléculaire 3M et au kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7). Conserver ces consignes de sécurité pour référence ultérieure.

⚠ AVERTISSEMENT : indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner un décès, des blessures graves et/ou des dommages matériels.

AVIS : indique une situation potentiellement dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner des dommages matériels.

⚠ AVERTISSEMENT

Ne pas utiliser le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) pour diagnostiquer des pathologies chez les humains ou les animaux.

L'utilisateur doit former son personnel aux techniques d'analyse actuelles appropriées, par exemple : les bonnes pratiques de laboratoire, la norme ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ ou la norme ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Se conformer au protocole et effectuer les tests en suivant exactement les instructions relatives au produit.
- Utiliser un milieu préchauffé à $41,5 \pm 1$ °C. Ne pas laisser le milieu descendre à une température inférieure à la plage des températures d'incubation lors de la préparation de l'échantillon.
- Conserver le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) conformément aux indications sur l'emballage et aux instructions relatives au produit.
- Toujours utiliser le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) avant la date de péremption.
- Utiliser le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) avec les échantillons d'aliments, d'aliments pour animaux et d'environnement de transformation alimentaire qui ont été validés en interne ou par une tierce partie.
- N'utiliser le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) qu'avec des surfaces, des désinfectants, des protocoles et des souches bactériennes validés en interne ou par une tierce partie.
- En cas d'échantillon environnemental contenant un tampon neutralisant (NB) avec un composé d'aryle sulfonate, diluer à 1:2 l'échantillon dans un bouillon d'enrichissement stérile avant l'analyse (1 volume d'échantillon pour 1 volume de bouillon). Une autre option consiste à transférer 10 µL de l'enrichissement du tampon neutralisant dans les tubes de solution de lyse 3M. Produits pour la manipulation des échantillons 3M™ comprenant un tampon neutralisant 3M™ contenant un complexe d'aryle sulfonate : BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XLSL10NB, HS10NB et HS119510NB.

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

- Effectuer les analyses bactériologiques dans un laboratoire correctement équipé et sous la supervision de professionnels qualifiés. Les milieux d'enrichissement incubés et les équipements ou les surfaces ayant été en contact avec des milieux d'enrichissement incubés peuvent contenir des agents pathogènes à des niveaux suffisamment élevés pour entraîner des risques pour la santé humaine.
- Toujours respecter les consignes de sécurité courantes du laboratoire, porter des tenues et lunettes de protection adaptées lors de la manipulation de réactifs et d'échantillons contaminés.
- Éviter tout contact avec le contenu du milieu d'enrichissement et les tubes de réactifs après l'amplification.
- Éliminer les échantillons enrichis et les déchets contaminés associés conformément aux normes locales/régionales/nationales/du secteur actuelles.
- Ne pas dépasser le paramètre de température recommandé sur le dispositif de chauffe.
- Ne pas dépasser le temps de chauffe recommandé.
- Utiliser un thermomètre étalonné adapté pour vérifier la température du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M™ (p. ex. thermomètre à immersion partielle ou thermomètre à thermocouple numérique et non un thermomètre à immersion totale). Le thermomètre doit être placé à l'endroit indiqué du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M.

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

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

Afin de réduire les risques associés à l'exposition à des liquides très chauds :

- Ne pas dépasser le paramètre de température recommandé sur le dispositif de chauffe.
- Ne pas dépasser le temps de chauffe recommandé.
- Utiliser un thermomètre étalonné adapté pour vérifier la température du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M™ (p. ex. thermomètre à immersion partielle ou thermomètre à thermocouple numérique et non un thermomètre à immersion totale). Le thermomètre doit être placé à l'endroit indiqué du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M.



AVIS

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

- Utiliser de préférence des pipettes de qualité biologie moléculaire, stériles et munies d'embouts à filtre.
- Utiliser une nouvelle pipette pour chaque transfert d'échantillon.
- Utiliser les bonnes pratiques de laboratoire pour transférer l'échantillon de l'enrichissement vers le tube de lyse. Pour éviter toute contamination des pipettes, l'utilisateur peut choisir d'ajouter une étape de transfert intermédiaire. Par exemple, l'utilisateur peut transférer chaque échantillon enrichi dans un tube stérile.
- Utiliser un poste de travail de biologie moléculaire disposant si possible d'une lampe germicide.

Afin de réduire les risques associés à un faux positif :

- Ne jamais ouvrir les tubes après amplification.
- Toujours éliminer les tubes contaminés en les faisant tremper dans une solution d'eau de Javel à 1-5 % (v:v dans l'eau) pendant 1 heure. Effectuer cette procédure à distance de la zone de préparation de l'analyse.

Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations supplémentaires et connaître la réglementation locale relative à la mise au rebut.

Pour toute question concernant des applications ou procédures spécifiques, consulter notre site Internet à l'adresse www.3M.com/foodsafety ou contacter votre représentant ou distributeur 3M local.

Responsabilité de l'utilisateur

Il incombe aux utilisateurs de prendre connaissance des instructions et des informations relatives au produit. Consulter notre site Web www.3M.com/foodsafety ou contacter le représentant ou distributeur 3M local pour obtenir de plus amples informations.

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

Il incombe à l'utilisateur de sélectionner une méthode ou un produit d'analyse adapté pour évaluer un nombre suffisant d'échantillons avec les matrices et les souches microbiennes appropriées, afin de garantir que la méthode d'analyse est conforme à ses critères.

Il incombe également à l'utilisateur de déterminer si une méthode d'analyse et ses résultats répondent aux exigences de ses clients ou fournisseurs.

Comme pour toute méthode d'analyse, les résultats obtenus avec un produit 3M Sécurité Alimentaire ne constituent pas une garantie de la qualité des matrices ou des processus testés.

Dans le but d'aider les clients à évaluer la méthode pour différentes matrices alimentaires, 3M a élaboré le kit de contrôle de matrice pour système de détection moléculaire 3M™. Lorsque cela est nécessaire, utiliser le contrôle de matrice (MC) pour déterminer si la matrice peut avoir un impact sur les résultats du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7). Tester plusieurs échantillons représentatifs de la matrice, c.-à-d. des échantillons d'origines différentes, au cours de toute période de validation lors de l'adoption de la méthode 3M ou dans le cadre d'analyses de matrices nouvelles, inconnues ou ayant subi des modifications de matières premières ou de processus.

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

Limitations de garanties/Limites de recours

SAUF SI EXPRESSÉMENT ÉTABLI DANS LA SECTION DE GARANTIE LIMITÉE D'UN EMBALLAGE DE PRODUIT INDIVIDUEL, 3M RENONCE À TOUTE GARANTIE EXPLICITE ET IMPLICITE, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, TOUTE GARANTIE DE COMMERCIALISATION OU D'ADAPTATION POUR UN USAGE SPÉCIFIQUE. En cas de défaut de tout produit 3M Sécurité Alimentaire, 3M ou son distributeur agréé s'engage, à son entière discrétion, au remplacement ou au remboursement du prix d'achat du produit. Il s'agit de vos recours exclusifs. Tout défaut supposé du produit devra être notifié à 3M dans un délai de soixante jours et le produit renvoyé au fournisseur. Appeler le Service clientèle (1-800-328-1671 aux États-Unis) ou votre représentant officiel 3M Sécurité Alimentaire pour obtenir une autorisation de renvoi.

Limitation de responsabilité de 3M

3M NE SERA PAS TENUE RESPONSABLE DES PERTES OU DES DOMMAGES ÉVENTUELS, QU'ILS SOIENT DIRECTS, INDIRECTS, SPÉCIFIQUES, ACCIDENTELS OU CONSÉCUTIFS, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, LES PERTES DE PROFITS. En aucun cas et en aucune manière, la responsabilité de 3M ne sera engagée au-delà du prix d'achat du produit prétendu défectueux.

Stockage et mise au rebut

Conserver le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Conserver à l'abri de la lumière. Une fois le kit ouvert, vérifier que le sachet en aluminium est intact. Si ce sachet est endommagé, ne pas utiliser le kit. Après ouverture, les tubes de réactif non utilisés doivent toujours être conservés dans le sachet refermable, en laissant l'agent déshydratant à l'intérieur afin de maintenir la stabilité des réactifs lyophilisés. Conserver les poches refermées à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas conserver plus de 60 jours.

Ne pas utiliser le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) après la date de péremption. La date de péremption et le numéro de lot sont inscrits sur l'étiquette extérieure de la boîte. Après utilisation, il est possible que les tubes de milieu d'enrichissement et du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) contiennent des éléments pathogènes. Lorsque l'analyse est terminée, suivre les normes actuelles du secteur pour l'élimination des déchets contaminés. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations supplémentaires et connaître la réglementation locale relative à la mise au rebut.

Instructions d'utilisation

Suivre attentivement toutes les instructions. Dans le cas contraire, les résultats obtenus risquent d'être inexacts.

L'utilisateur doit suivre la formation de qualification de l'opérateur du système de détection moléculaire 3M, comme décrit dans le document intitulé « Protocoles et instructions relatifs à la qualification d'installation (IQ)/qualification opérationnelle (OQ) pour le système de détection moléculaire 3M »⁽⁷⁾.

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

Se référer à la section « Instructions spécifiques pour méthodes validées » pour connaître les exigences spécifiques :

Voir le tableau 3 pour les protocoles d'enrichissement selon les *Official Method of Analysis*SM de l'AOAC® 2017.01

Voir le tableau 4 pour les protocoles d'enrichissement selon la méthode de certification NF Validation 3M 01/18-05/17

Enrichissement de l'échantillon

Les tableaux 2, 3 et 4 fournissent des indications pour les protocoles d'enrichissement des échantillons d'aliments. Il incombe à l'utilisateur de valider des protocoles d'échantillonnage ou des proportions de dilution différent(e)s pour garantir que cette méthode d'analyse est conforme à ses critères.

Aliments

1. Préchauffer le milieu d'enrichissement BPW ISO à 41,5 ± 1 °C.
2. Mélanger de manière aseptique le milieu d'enrichissement et l'échantillon conformément au tableau 2, 3 ou 4. Pour tous les échantillons de viande et à forte teneur en particules, il est recommandé d'utiliser des sacs avec filtre.
3. Homogénéiser soigneusement toutes les matrices, sauf les légumes-feuilles et les fruits, par homogénéisation mécanique, homogénéisation péristaltique ou mélange manuel pendant 2 ± 0,2 minutes. Incuber à 41,5 ± 1 °C pendant la durée appropriée, conformément aux tableaux 2, 3 ou 4.

Tableau 2. Protocoles d'enrichissement généraux

Matrice de l'échantillon ^(a)	Taille de l'échantillon	Volume du bouillon d'enrichissement (mL)	Température d'enrichissement (± 1 °C)	Durée d'enrichissement (h)
Bœuf cru, y compris viande hachée/hachis et parure	325 g	975 BPW ISO (préchauffé)	41,5	10-18
Viandes crues, y compris bœuf, porc, volaille, agneau et bison cru	25 g	225 BPW ISO (préchauffé)	41,5	8-18
Légumes-feuilles ^(b)	200 g	450 BPW ISO (préchauffé)	41,5	18-24
Autres aliments, y compris fruits ^(b) , légumes, jus de fruits/légumes, herbes fraîches, fruits de mer crus, œufs crus, lait cru, pâte à biscuits et viandes transformées	25 g	225 BPW ISO (préchauffé)	41,5	18-24

Noix ou mélanges de fruits à coque contenant des noix (ce protocole s'applique aux autres fruits à coque, y compris aux noix de pécan, amandes, pistaches, noix de cajou et châtaignes)	25 g	225 lait en poudre écrémé reconstitué	41,5	18-24
---	------	--	------	-------

- (a) Les échantillons congelés doivent être amenés à une température comprise entre 4 et 8 °C avant d'être ajoutés au bouillon d'enrichissement.
- (b) Les échantillons de légumes-feuilles et de fruits doivent être agités doucement à la main pendant 5 minutes. Ne pas homogénéiser par action mécanique ou péristaltique.

Instructions spécifiques pour méthodes validées

Official Methods of AnalysisSM de l'AOAC® 2017.01

Dans le programme *Official Method of AnalysisSM* de l'AOAC, le kit de détection moléculaire *E. coli* O157 3M (incluant H7) s'est révélé être une méthode efficace pour la détection de *E. coli* O157:H7. Les matrices testées au cours de l'étude sont répertoriées dans le tableau 3.

Tableau 3. Protocoles d'enrichissement utilisant une BPW ISO préchauffée à une température de 41,5 ± 1 °C selon les *Official MethodsSM* de AOAC® 2017.01

Matrice de l'échantillon	Taille de l'échantillon	Volume du bouillon d'enrichissement (mL)	Durée d'enrichissement (h)	Homogénéisé
Viande hachée de bœuf crue (73 % de viande maigre)	325 g	975	10-18	Manuellement ou par action péristaltique
Épinards crus en sachet ^(a)	200 g	450	18-24	Agité doucement à la main pendant 5 minutes, ne pas homogénéiser
Choux de Bruxelles frais	25 g	225	18-24	Agité doucement à la main pendant 5 minutes, ne pas homogénéiser
Myrtilles surgelées ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	Agité doucement à la main pendant 5 minutes, ne pas homogénéiser

- (a) Les échantillons de légumes-feuilles et de fruits doivent être agités doucement à la main pendant 5 minutes. Ne pas homogénéiser par action mécanique ou péristaltique.
- (b) Les échantillons congelés doivent être amenés à une température comprise entre 4 et 8 °C avant d'être ajoutés au bouillon d'enrichissement.

Méthode certifiée par AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

MÉTHODES ALTERNATIVES D'ANALYSE POUR L'AGROALIMENTAIRE

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

Pour plus d'information sur l'expiration de la validité, se reporter au certificat NF VALIDATION disponible sur le site Internet cité ci-dessus.

Méthode de certification NF VALIDATION, conformément à la norme ISO 16140-2⁽⁸⁾ par rapport à la norme ISO 16654⁽³⁾

Portée de la validation : viande de bœuf crue, produits laitiers au lait cru, fruits et légumes crus

Préparation de l'échantillon : les échantillons doivent être préparés conformément aux normes EN ISO 16654 et EN ISO 6887⁽⁶⁾

Version de logiciel : voir le certificat



Tableau 4. Protocoles d'enrichissement utilisant une BPW ISO préchauffée à une température de $41,5 \pm 1$ °C selon la méthode de certification NF VALIDATION 3M 01/18-05/17

Protocole	Taille de l'échantillon	Volume du bouillon d'enrichissement (mL)	Température d'enrichissement (± 1 °C)	Durée d'enrichissement (h)
Produits laitiers au lait cru, fruits crus et légumes crus	25 g	225	41,5	18-24
Viande de bœuf crue	25 g	225	41,5	8-24

REMARQUES :

- Les échantillons supérieurs à 25 g n'ont pas été analysés dans le cadre de l'étude NF VALIDATION.
- Les points d'interruption du protocole recommandés se situent après l'enrichissement ou après la lyse de l'échantillon. Le bouillon d'enrichissement ou le lysat de l'échantillon peut être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant une durée maximale de 72 heures. Après avoir retiré le bouillon d'enrichissement de son lieu de conservation, reprendre l'analyse à partir de l'étape 1 de la section **Lyse**. Après avoir retiré le lysat de l'échantillon de son lieu de conservation, reprendre l'analyse à partir de l'étape 7 de la section **Lyse**. Le lysat peut également être conservé à -20 °C.
- Les protocoles d'enrichissement courts sont sensibles aux conditions d'incubation et les températures spécifiées dans le protocole doivent être respectées. La température du bain-marie ou de l'incubateur où les bouillons sont préchauffés doit être contrôlée pour s'assurer que le bouillon d'enrichissement atteigne la température requise. La durée totale nécessaire pour la préparation de l'échantillon, y compris le délai entre la fin de l'étape de préchauffage du milieu et le début de l'incubation de l'échantillon alimentaire, ne doit pas dépasser 45 minutes. Il est recommandé d'utiliser un incubateur ventilé durant l'incubation.

Préparation du plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire 3M™

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

Préparation du support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M™

Poser le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M sur le plan de travail du laboratoire : le plateau de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M n'est pas utilisé. Utiliser le bloc refroidissant à la température ambiante du laboratoire (20 et 25 °C).

Préparation du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M™

Placer le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M dans une unité de traitement thermique à sec double bloc. Allumer l'unité de traitement thermique à sec et régler la température afin que le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M atteigne et conserve une température de 100 ± 1 °C.

REMARQUE : selon l'unité de traitement thermique utilisée, le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M atteint la température souhaitée en 30 minutes environ. Utiliser un thermomètre étalonné adapté (p. ex., un thermomètre à immersion partielle ou un thermomètre à thermocouple numérique, et non un thermomètre à immersion totale) placé à l'endroit indiqué du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M afin de vérifier que sa température est de 100 ± 1 °C.

Préparation de l'instrument de détection moléculaire 3M™

1. Lancer le logiciel de détection moléculaire 3M™ et ouvrir une session. Contacter votre représentant 3M Sécurité Alimentaire pour vous assurer d'avoir la version la plus récente du logiciel.
2. Mettre l'instrument de détection moléculaire 3M sous tension.
3. Créer ou modifier une analyse en saisissant les données pour chaque échantillon. Pour plus de précisions, consulter le manuel d'utilisation du système de détection moléculaire 3M™.

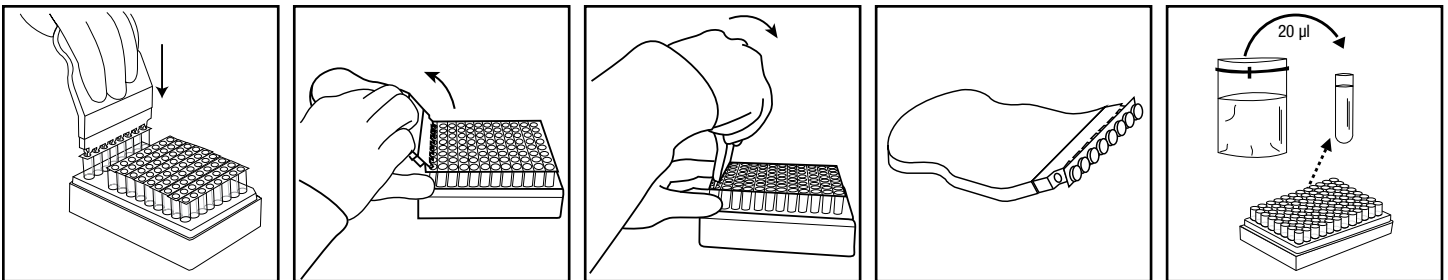
REMARQUE : l'instrument de détection moléculaire 3M doit atteindre et maintenir la température de 60 °C avant l'insertion du plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire 3M, dans lequel sont placés les tubes de réactifs. Cette étape de chauffage prend environ 20 minutes ; pendant ce processus, un voyant lumineux ORANGE s'allume sur la barre d'état de l'instrument. Lorsque l'instrument est prêt pour l'analyse, la barre d'état passe au VERT.

Lyse

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

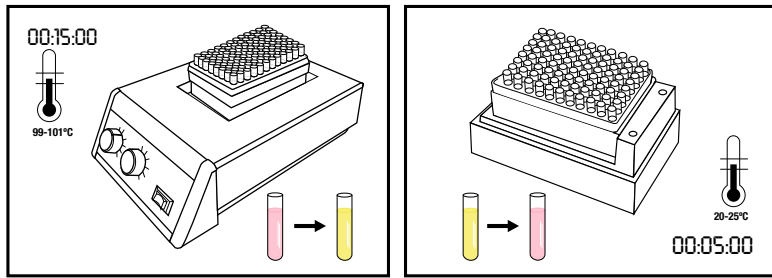
Transférer **tout d'abord** chaque échantillon enrichi dans des tubes de solution de lyse 3M individuels.
Transférer le NC **en dernier**.

- 4.4 Ouvrir les barrettes de tubes de solution de lyse 3M une à une à l'aide de l'outil d'ouverture/fermeture pour système de détection moléculaire 3M™ - Lyse.
- 4.5 Jeter le bouchon du tube de solution de lyse 3M. Si le lysat doit être soumis à un nouveau test, placer les bouchons dans un récipient propre pour réapplication après la lyse.
 - 4.5.1 Pour le traitement du lysat conservé, voir l'annexe A.
- 4.6 Transférer 20 µl d'échantillon dans un tube de solution de lyse 3M, sauf indication contraire mentionnée dans les tableaux de protocole 2, 3 et 4.



5. Répéter l'étape 4.3 jusqu'à ce que chaque échantillon individuel soit ajouté à un tube de solution de lyse 3M correspondant sur la barrette.
6. Répéter les étapes 4.1 à 4.6 en fonction des besoins pour tous les échantillons à analyser.
7. Une fois tous les échantillons transférés, transférer 20 µL de NC (milieu d'enrichissement stérile, p. ex. BPW ISO) dans un tube de solution de lyse 3M. Ne pas utiliser d'eau comme NC.
8. Vérifier que la température du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M est de 100 ± 1 °C.
9. Placer le portoir non couvert de tubes de solution de lyse 3M dans le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M et chauffer pendant 15 ± 1 minutes. Lors du chauffage, la solution de lyse 3M passera de rose (froide) à jaune (chaude).
Les échantillons qui n'ont pas été soumis à un traitement thermique adéquat pendant l'étape de lyse peuvent être considérés comme potentiellement dangereux et ne doivent PAS être insérés dans l'instrument de détection moléculaire 3M.
10. Retirer le portoir non couvert de tubes de solution de lyse 3M du bloc chauffant et laisser refroidir dans le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M pendant une durée comprise entre 5 et 10 minutes. Utilisé à température ambiante sans le plateau de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M, le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M doit être posé directement sur le plan de travail du laboratoire. Une fois froide, la solution de lyse retrouvera une couleur rose.

- Retirer le couvercle des tubes de solution de lyse 3M du support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M.



Amplification

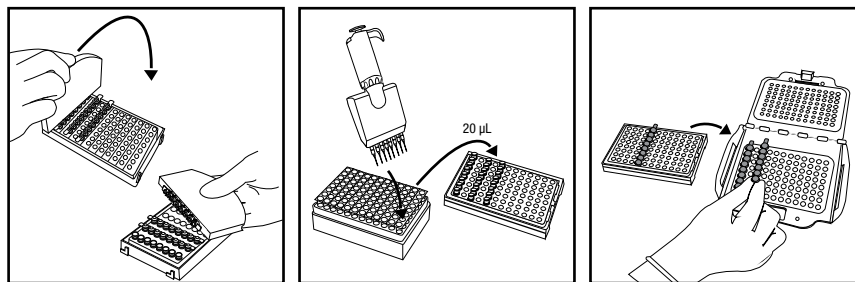
- Il est nécessaire d'utiliser un tube de réactif du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) pour chaque échantillon et pour le NC.
 - Les barrettes de tubes peuvent être coupées de manière à obtenir le nombre de tubes souhaité. Sélectionner le nombre de tubes individuels de réactifs du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) ou de barrettes de 8 tubes nécessaire.
 - Placer les tubes de réactifs du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) dans un portoir vide.
 - Éviter d'agiter les pastilles réactives se trouvant au fond des tubes.
- Sélectionner un tube de contrôle de réactif 3M et le placer dans le portoir.
- Afin d'éviter toute contamination croisée, ouvrir une barrette de tubes de réactifs du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) à la fois et utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque étape de transfert.
- Transférer le lysat dans un tube de réactif du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) et dans un tube de contrôle de réactif 3M comme décrit ci-dessous :

Transférer **d'abord** chaque lysat d'échantillon dans un tube de réactif du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7), puis faire de même avec le NC. Hydrater le tube de contrôle de réactif 3M **en dernier**.

- Ouvrir le tube de réactif du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) à l'aide de l'outil d'ouverture/fermeture pour système de détection moléculaire 3M™ - Réactif, en procédant une barrette de tubes après l'autre. Jeter le bouchon.
 - Transférer 20 µL de lysat d'échantillon prélevé au niveau de la moitié (½) supérieure du liquide (éviter le précipité) dans le tube de solution de lyse 3M vers le tube de réactif correspondant du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7). Incliner la pipette pour ne pas agiter les pastilles. Mélanger en effectuant 5 cycles d'aspiration / de refoulement avec la pipette.**
 - Répéter l'étape 5.1 jusqu'à ce que chaque lysat d'échantillon individuel ait été ajouté au tube de réactif correspondant du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) sur la barrette.
 - Placer les bouchons supplémentaires prévus à cet effet sur les tubes de réactif du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7), puis prendre le bord arrondi de l'outil d'ouverture/fermeture pour système de détection moléculaire 3M - Réactif et appuyer dans un mouvement de va-et-vient afin de s'assurer que le bouchon est parfaitement en place.
 - Répéter les étapes 5.1 à 5.3 pour tous les échantillons à analyser.
 - Lorsque tous les lysats d'échantillons ont été transférés, répéter les étapes 5.1 à 5.3 afin de transférer 20 µL de lysat de NC dans un tube de réactif du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7).
 - Transférer **20 µL de lysat de NC dans un tube de contrôle de réactif 3M**. Incliner la pipette pour ne pas agiter les pastilles. Mélanger en effectuant 5 cycles d'aspiration / de refoulement avec la pipette.



6. Charger les tubes recouverts d'un bouchon dans un plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire 3M propre et décontaminé. Fermer et verrouiller ensuite le couvercle.



7. Examiner et confirmer l'analyse configurée sur le logiciel de détection moléculaire 3M.
8. Cliquer sur l'icône « Démarrer » du logiciel et sélectionner l'instrument à utiliser. Le couvercle de l'appareil sélectionné s'ouvre automatiquement.
9. Placer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire 3M dans l'instrument de détection moléculaire 3M et fermer le couvercle pour lancer l'analyse. Les résultats sont obtenus en 60 minutes ; toutefois, les résultats positifs peuvent être détectés plus tôt.
10. Une fois l'analyse terminée, retirer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire 3M de l'instrument de détection moléculaire 3M et tremper les tubes dans une solution d'eau de Javel à 1-5 % (v:v dans de l'eau) pendant 1 heure, et ce, à l'écart de la zone de préparation des analyses.

AVIS : pour réduire le risque de résultats faux positifs dus à une contamination croisée, ne jamais ouvrir les tubes de réactif contenant du DNA amplifié. Cela s'applique au contrôle de réactif 3M, au tube de réactif du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) et aux tubes de contrôle de matrice 3M. Toujours éliminer les tubes de réactif fermés en les trempant dans une solution d'eau de Javel à 1-5 % (v:v dans de l'eau) pendant 1 heure, et ce à l'écart de la zone de préparation des analyses.

Résultats et interprétation

Un algorithme interprète le signal lumineux et la courbe de résultats provenant de la détection de l'amplification de l'acide nucléique. Les résultats sont automatiquement analysés par le logiciel et sont codés par couleur en fonction du résultat. Un résultat positif ou négatif est déterminé par l'analyse d'un nombre de paramètres des courbes individuelles. Les résultats présumés positifs sont rapportés en temps réel, tandis que les résultats négatifs ou à vérifier sont affichés à la fin de l'analyse.

Les résultats présumés positifs doivent être confirmés selon les procédures standard des laboratoires ou en suivant la confirmation de la méthode de référence appropriée^(1,2,3), en commençant par effectuer un transfert du premier bouillon d'enrichissement BPW ISO vers le ou les bouillons d'enrichissement secondaires, puis en effectuant la mise en culture et la confirmation des isolats à l'aide des méthodes biochimiques et sérologiques appropriées.

REMARQUE : même un échantillon négatif ne donnera pas de résultat égal à zéro, car le système et les réactifs d'amplification du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) effectuent une lecture d'unité relative de lumière (RLU) « de base ».

Dans le cas peu probable d'un résultat lumineux inhabituel, l'algorithme considérera l'échantillon comme « À vérifier ». 3M recommande à l'utilisateur de recommencer l'analyse pour tout échantillon considéré comme « À vérifier ». Si le résultat continue à être « À vérifier », passer au test de confirmation en utilisant la méthode de votre choix ou en utilisant une méthode conforme aux réglementations locales.

En cas de résultats contradictoires (positif présumé avec le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7), non confirmé par l'un des moyens décrits ci-dessus, et en particulier pour le test d'agglutination au latex), le laboratoire doit suivre les procédures nécessaires pour garantir la validité des résultats obtenus.

Confirmation des résultats selon la méthode de certification NF VALIDATION

Dans le cadre de la NF VALIDATION, tous les échantillons identifiés comme positifs par le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) doivent être confirmés par l'un des tests suivants :

Option 1 : utilisation de la norme ISO 16654⁽³⁾ en commençant par l'enrichissement en eau peptonée tamponnée⁽³⁾.

Option 2 : mise en place d'une méthode de confirmation consistant à effectuer les étapes suivantes : étaler en stries 50 µL d'enrichissement en eau peptonée tamponnée⁽³⁾ sur une boîte de gélose MacConkey Sorbitol au céfixime et tellurite de potassium (CT-SMAC)⁽³⁾. Incuber pendant 24 ± 3 heures à 37 °C. Étaler en stries les colonies caractéristiques sur de la gélose nutritive et effectuer un test d'agglutination au latex directement sur les colonies isolées. Si les résultats du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7) ne sont pas confirmés, effectuer une séparation immunomagnétique, puis étaler en stries 50 µL sur la gélose CT-SMAC.



Option 3 : utilisation de sondes nucléiques tel que décrit dans la norme EN ISO 7218⁽⁶⁾, à partir de colonies isolées (purifiées ou non) obtenues sur la gélose CT-SMAC (voir option 1 ou 2). Les sondes nucléiques doivent être différentes de celles utilisées dans le kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7).

Option 4 : utilisation de n'importe quelle autre méthode de certification NF VALIDATION, dont le principe doit être différent du kit de détection moléculaire 2 - *E. coli* O157 3M (incluant H7). Il convient d'utiliser l'intégralité du protocole décrit pour cette seconde méthode de validation. Toutes les étapes précédant le début de la confirmation doivent être communes aux deux méthodes.

En cas de résultats contradictoires (positif présumé avec l'autre méthode, non confirmé par l'un des moyens décrits ci-dessus), le laboratoire doit suivre les procédures nécessaires pour garantir la validité du résultat obtenu.

Pour toute question concernant des applications ou procédures spécifiques, consulter notre site Internet à l'adresse www.3M.com/foodsafety ou contacter votre représentant ou distributeur 3M local.

Annexe A. Interruption du protocole : conservation et nouveau test des échantillons

1. Pour conserver un lysat soumis à un traitement thermique, refermer le tube de lyse avec un bouchon propre (voir la section **Lyse**, 4.5).
2. Pour conserver un échantillon enrichi, incubé pendant au moins 18 heures avant la conservation.
3. Stocker à une température comprise entre 4 et 8 °C jusqu'à 72 heures.
4. Préparer un échantillon conservé pour amplification en retournant 2 à 3 fois pour mélanger.
5. Ouvrir les tubes.
6. Placer les tubes pour lysats mélangés dans le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire 3M et chauffer à 100 ± 1 °C pendant 5 ± 1 minutes.
7. Retirer le portoir de tubes de solution de lyse 3M du bloc chauffant et laisser refroidir dans le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire 3M pendant une durée comprise entre 5 et 10 minutes.
8. Poursuivre le protocole à la section **Amplification** détaillée ci-dessus.

Références :

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Explication des symboles

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Gebrauchsanweisungen

Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2

Produktbeschreibung und Verwendungszweck

Der 3M™ Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 wird in Verbindung mit dem 3M™ Molekularen Detektionssystem für den schnellen und spezifischen Nachweis von *E. coli* O157 (einschl. H7) in angereicherten Proben aus Lebens- und Futtermitteln verwendet.

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

Der 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 ist für den Gebrauch in Laboren bestimmt und muss von in Laborverfahren geschultem Fachpersonal angewendet werden. 3M verfügt über keine Daten zur Anwendung dieses Produkts in anderen Industrien als der Lebensmittel- und Getränkeindustrie. Zum Beispiel verfügt 3M über keine Daten zur Verwendung dieses Produkts mit Umgebungs-, Pharmazeutika-, Kosmetika- oder klinischen und tiermedizinischen Proben. Der 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 wurde nicht mit allen möglichen Lebensmittelprodukten, Lebensmittelverarbeitungsverfahren, Testprotokollen oder allen möglichen Bakterienstämmen evaluiert.

Wie bei allen Testverfahren können die Ergebnisse durch die Quelle, Zusammensetzung und Qualität des Anreicherungsmediums beeinflusst werden. Faktoren wie Probennahme, Testprotokolle, Probenaufbereitung, Handhabung und Labortechnik können die Ergebnisse beeinflussen. 3M empfiehlt die Beurteilung der Methode einschließlich Anreicherungsmedium in der Umgebung des Benutzers mit einer ausreichenden Anzahl an Proben mit bestimmten Lebensmitteln und mikrobiellen Pathogenen, um sicherzustellen, dass die Methode den Anforderungen des Benutzers entspricht.

3M hat den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 mit gepuffertem Peptonwasser (ISO) evaluiert.

Das 3M™ Molekulare Detektion – Gerät ist für die Verwendung mit Proben bestimmt, die während der Assay-Lyse wärmebehandelt wurden, wodurch die in der Probe vorhandenen Organismen zerstört werden sollen. Proben, die während der Lyse nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt wurden, stellen möglicherweise ein biologisches Risiko dar und sollten NICHT in das 3M Molekulare Detektion – Gerät eingesetzt werden.

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

Der 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 enthält 96 Testkits, die in Tabelle 1 beschrieben werden.

Tabelle 1. Komponenten des 3M Molekularen Detektionsnachweises

Artikel	Kennzeichnung	Stückzahl	Inhalt	Kommentare
3M™ Lyselösung (LS)	Rosafarbene Lösung in transparenten Gefäßen	96 (12 Streifen in 8 Gefäßen)	580 µl 3M Lyselösung pro Gefäß	Abgefüllt und gebrauchsfertig
Reagenzgefäße für 3M™ Molekulare Detektion – <i>E. coli</i> O157 (einschl. H7) Nachweis 2	Rosafarbende Gefäße	96 (12 Streifen in 8 Gefäßen)	Lyophilisierte spezifische Amplifikations- und Detektionsmischung	Gebrauchsfertig
Zusätzliche Kappen	Rosafarbende Kappen	96 (12 Streifen in 8 Kappen)		Gebrauchsfertig
3M™ Reagenzkontrolle (RC)	Durchsichtige Kippgefäße	16 (2 Beutel mit 8 einzelnen Gefäßen)	Lyophilisierte Kontroll-DNS, Amplifikations- und Detektionsmatrix	Gebrauchsfertig
Kurzanleitung		1		

Die Negativkontrolle (nicht im Kit enthalten) ist ein steriles Anreicherungsmedium, z. B. BPW ISO. Als Negativkontrolle kein Wasser verwenden.

Sicherheit

Der Anwender muss sämtliche in der Gebrauchsanleitung des 3M Molekulare Detektionssystems und des 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweises 2 aufgeführten Sicherheitshinweise gelesen und verstanden haben. Bewahren Sie diese Sicherheitshinweise auf, um später auf sie zurückgreifen zu können.

⚠️ WARNUNG: Bezeichnet eine Gefahrensituation, die – wenn sie nicht vermieden wird – zum Tode oder zu schweren Verletzungen und/oder Sachschäden führen kann.

HINWEIS: Bezeichnet eine potenzielle Gefahrensituation, die – wenn sie nicht vermieden wird – zu Sachschäden führen kann.

⚠️ WARNUNG

Den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 nicht zur Diagnose von Erkrankungen bei Menschen oder Tieren einsetzen.

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

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

- Befolgen Sie das Protokoll und führen Sie die Tests genau wie in der Gebrauchsanweisung angegeben durch.
- Verwenden Sie ein auf $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ vorgewärmtes Medium. Die Temperatur des Mediums darf während der Probenaufbereitung nicht unter den Inkubationstemperaturbereich sinken.
- Lagern Sie den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 wie auf der Packung und in den Gebrauchsanweisungen beschrieben.
- Verwenden Sie den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 stets vor Ablauf des Verfalldatums.
- Verwenden Sie den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 mit Lebensmittel-, Futter- und Lebensmittelverfahrensproben, die entweder intern oder von einem Dritten evaluiert worden sind.
- Verwenden Sie den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 nur mit Oberflächen, Desinfektionsmitteln, Protokollen und Bakterienstämmen, die intern oder durch Dritte validiert wurden.
- Wenn Sie eine Umgebungsprobe haben, die einen Neutralisationspuffer (NB) mit einem Acrylsulfonat-Komplex enthält, dann müssen Sie vor dem Testen der Probe eine 1:2 Verdünnung (1 Teil Probe in 1 Teil steriler Anreicherungsbouillon) vornehmen. Ebenso können Sie 10 µl Anreicherungsmedium mit Neutralisationspuffer in die 3M Lyselösungsgefäße übertragen. 3M™ Produkte zur Probenhandhabung, die 3M™ Neutralisationspuffer mit Acrylsulfonat-Komplex enthalten: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XLSL10NB, HS10NB und HS119510NB.

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

- Führen Sie die Testverfahren mit Pathogenen in einem entsprechend ausgerüsteten Labor und unter der Aufsicht von geschultem Fachpersonal durch. Inkubierte Anreicherungsmedien und Arbeitsgeräte oder Oberflächen, die in Kontakt mit inkubierten Anreicherungsmedien gekommen sind, können so stark mit Krankheitserregern belastet sein, dass ein Risiko für die menschliche Gesundheit besteht.
- Befolgen Sie stets die üblichen Labor-Sicherheitsmaßnahmen und tragen Sie bei der Handhabung von Reagenzien und kontaminierten Proben angemessene Schutzkleidung und geeigneten Augenschutz.
- Vermeiden Sie nach der Amplifikation den Kontakt mit dem Anreicherungsmedium und den Reagenzgefäßen.
- Entsorgen Sie die angereicherten Proben und die damit verbundenen kontaminierten Abfälle gemäß den gültigen lokalen, regionalen, und nationalen Industrienormen.
- Achten Sie darauf, die empfohlene Temperatur des Heizgeräts nicht zu überschreiten.
- Achten Sie darauf, die empfohlene Anwärmdauer nicht zu überschreiten.
- Verwenden Sie ein geeignetes, kalibriertes Thermometer, um sicherzustellen, dass der 3M™ Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die richtige Temperatur aufweist (z. B. ein Thermometer zum partiellen Eintauchen oder ein Digitalthermometer, kein Tauchthermometer). Das Thermometer muss an der vorgesehenen Stelle des 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatzes platziert werden.

Zur Verminderung von Kreuzkontaminationsrisiken bei der Vorbereitung des Tests:

- Tragen Sie stets Handschuhe (sowohl zum Schutz des Anwenders als auch, um ein Einbringen von Nukleasen zu vermeiden).

Zur Verminderung der Risiken, die mit der Exposition gegenüber heißen Flüssigkeiten verbunden sind:

- Achten Sie darauf, die empfohlene Temperatur des Heizgeräts nicht zu überschreiten.
- Achten Sie darauf, die empfohlene Anwärmdauer nicht zu überschreiten.
- Verwenden Sie ein geeignetes, kalibriertes Thermometer, um sicherzustellen, dass der 3M™ Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die richtige Temperatur aufweist (z. B. ein Thermometer zum partiellen Eintauchen oder ein Digitalthermometer, kein Tauchthermometer). Das Thermometer muss an der vorgesehenen Stelle des 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatzes platziert werden.

HINWEIS

Zur Verminderung von Kreuzkontaminationsrisiken bei der Vorbereitung des Tests:

- Es wird empfohlen, sterile, hochreine Pipettenspitzen mit Feuchtigkeitsschutz (Filter) zu verwenden.
- Verwenden Sie für jede Probenübertragung eine neue Pipettenspitze.
- Wenden Sie die Grundsätze der Guten Laborpraxis bei der Übertragung der angereicherten Probe auf das Lysegefäß an. Um eine Kontamination der Pipette zu vermeiden, sollte der Anwender bei der Übertragung einen Zwischenschritt durchführen. Beispielsweise kann der Anwender jede angereicherte Probe auf ein steriles Gefäß übertragen.
- Sofern möglich, arbeiten Sie an einer molekularbiologischen Arbeitsstation mit Germizidlampe.

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

- Öffnen Sie die Gefäße niemals nach der Amplifikation.
- Kontaminierte Gefäße immer aus dem Nachweis-Vorbereitungsbereich entfernen, in 1-5%iger (v:v in Wasser) Haushaltsbleichmittellösung für 1 Stunde einweichen und dann entsorgen.

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

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

Verantwortung des Anwenders

Anwender müssen sich auf eigene Verantwortung mit den Gebrauchsanweisungen und Informationen des Produkts vertraut machen. Für weitere Informationen besuchen Sie unsere Website unter www.3M.com/foodsafety oder wenden Sie sich an Ihren lokalen 3M Verkaufsvertreter oder Händler.

Bei der Auswahl einer Testmethode ist zu beachten, dass externe Faktoren wie Probennahmemethoden, Testprotokolle, Probenaufbereitung, Handhabung und Labortechnik die Ergebnisse beeinflussen können.

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders bei der Auswahl einer Testmethode oder eines Produkts, diese mit einer ausreichenden Anzahl von Proben und Kontrollen zu evaluieren, um sicherzustellen, dass die gewählte Testmethode seinen Anforderungen entspricht.

Der Anwender trägt ebenfalls die Verantwortung dafür, dass die angewendeten Testmethoden und Ergebnisse den Anforderungen seiner Kunden und Lieferanten entsprechen.

Wie bei allen Testmethoden, stellen die mit 3M Lebensmittelsicherheitsprodukten erhaltenen Ergebnisse keine Garantie für die Qualität der untersuchten Matrizen oder Prozesse dar.

Als Unterstützung von Kunden bei der Validierung der Methode für verschiedene Lebensmittel-Matrizes hat 3M das Set 3M™ Molekulare Detektion – Matrixkontrolle entwickelt. Verwenden Sie bei Bedarf die Matrixkontrolle (MC), um zu bestimmen, ob die Matrix in der Lage ist, die Ergebnisse des 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweises 2 zu beeinträchtigen. Testen Sie mehrere für die Matrix repräsentative Proben, d. h. Proben unterschiedlicher Herkunft, während einer Validierungsphase, wenn die Methode von 3M zum Einsatz kommt oder beim Testen neuer oder unbekannter Matrizen oder Matrizen, die Rohmaterial- oder Verfahrensänderungen durchlaufen haben.

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

Haftungsbeschränkungen/Beschränkte Rechtsmittel

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

Haftungsbeschränkungen von 3M

3M HAFTET NICHT FÜR VERLUSTE ODER SCHÄDEN, GANZ GLEICH OB MITTELBARE, UNMITTELBARE, SPEZIELLE, NEBEN- ODER FOLGESCHÄDEN EINSCHLIESSLICH, ABER NICHT BESCHRÄNKT AUF ENTGANGENEN GEWINN. In keinem Fall übersteigt die Haftung von 3M den Kaufpreis des angeblich defekten Produkts.

Lagerung und Entsorgung

Lagern Sie den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 bei 2–8 °C. Nicht einfrieren. Lichtgeschützt lagern. Vergewissern Sie sich nach dem Öffnen des Sets, dass der Folienbeutel unbeschädigt ist. Verwenden Sie das Set keinesfalls bei beschädigtem Beutel. Nach dem Öffnen sollten nicht verwendete Reagenzgefäße gemeinsam mit dem Trockenmittel stets im wiederverschließbaren Beutel verwahrt werden, um die Stabilität der lyophilisierten Reagenzien sicherzustellen. Wieder verschlossene Beutel können maximal 60 Tage bei 2–8 °C aufbewahrt werden.

Verwenden Sie den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 nicht nach Ablauf des Verfalldatums. Das Verfalldatum und die Chargennummer sind auf dem äußeren Etikett der Packung angegeben. Nach dem Gebrauch können das Anreicherungsmedium und die Gefäße des 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweises 2 pathogene Stoffe enthalten. Beachten Sie nach Abschluss der Testverfahren die gültigen Branchennormen für die Entsorgung von kontaminierten Abfällen. Weitere Informationen sowie die jeweils vor Ort geltenden Richtlinien zur Entsorgung entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt.

Bedienungsanleitung

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

Der Anwender muss die Funktionsqualifizierung für das 3M Molekulare Detektionssystem absolvieren, wie im Dokument „Protokolle und Anweisungen für Installationsqualifizierung (IQ)/Funktionsqualifizierung (OQ) für das 3M Molekulare Detektionssystem“ beschrieben⁽⁷⁾.

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

Spezifische Anweisungen finden Sie im Abschnitt „Spezielle Anweisungen für validierte Verfahren“:

Für Anreicherungsprotokolle gemäß AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01 in Tabelle 3.

Für Anreicherungsprotokolle gemäß NF Validation-Zertifikat 3M 01/18-05/17 in Tabelle 4.

Probenanreicherung

Tabelle 2, 3 und 4 enthalten Richtlinien für das Anreichern von Lebensmittelproben. Der Anwender ist selbst für die Validierung von alternativen Probennahmeprotokollen oder Verdünnungsverhältnissen verantwortlich, durch die sichergestellt werden muss, dass dieses Testverfahren den Anforderungen entspricht.

Lebensmittel

1. Anreicherungsmedium BPW ISO auf 41,5 ± 1 °C erwärmen.
2. Anreicherungsmedium und Probe aseptisch gemäß den Tabellen 2, 3 und 4 mischen. Bei der Handhabung von Fleisch- und partikelreichen Proben wird die Verwendung von Filterbeuteln empfohlen.
3. Alle Matrizen, außer Blattsalate und Obst, durch 2 ± 0,2 Minuten langes Mischen, Auswalken oder mischen von Hand homogenisieren. Bei 41,5 ± 1 °C gemäß der entsprechenden Zeit aus Tabelle 2, 3 oder 4 inkubieren.

Tabelle 2. Allgemeine Anreicherungsprotokolle

Probenmatrix ^(a)	Probengröße	Anreicherungsbouillonvolumen (ml)	Anreicherungstemperatur (± 1 °C)	Anreicherungszeit (Stunden)
Rohes Rindfleisch inklusive Hack/Schabefleisch und Abschnitte	325 g	975 BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	10–18
Rohes Fleisch inklusive rohes Rindfleisch, Schweinefleisch, Geflügel, Lamm und Bison	25 g	225 BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	8–18
Blattsalate ^(b)	200 g	450 BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	18–24
Andere Lebensmittel inklusive Früchte ^(b) , Gemüse, Frucht- und Gemüsesäfte, frische Kräuter, rohe Meeresfrüchte, rohe Eier, Rohmilch, Keksteig, und verarbeitetes Fleisch	25 g	225 BPW ISO (vorgewärmt)	41,5	18–24

Walnüsse oder Nussmischungen, die Walnüsse enthalten (dieses Protokoll ist auch für andere Nüsse wie Pekannüsse, Mandeln, Pistazien, Cashewnüsse und Esskastanien anwendbar)	25 g	225 rekonstituierte fettfreie Trockenmilch	41,5	18–24
--	------	--	------	-------

(a) Vor Zugabe zur Anreicherungsbouillon müssen gefrorene Proben auf 4–8 °C erwärmt werden.

(b) Blattsalat- und Fruchtproben müssen für 5 Minuten sanft von Hand geschüttelt werden. Nicht mischen oder auswalken.

Spezifische Anweisungen für validierte Verfahren

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

Im Programm AOAC Official Method of AnalysisSM wurde der 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 als effektive Methode für den Nachweis von *E. coli* O157:H7 bewertet. Die in der Studie getesteten Matrices sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3. Anreicherungsprotokolle verwenden auf 41,5 ± 1 °C vorgewärmtes BPW ISO gemäß der AOAC® Official MethodsSM 2017.01

Probenmatrix	Probengröße	Anreicherungsbouillonvolumen (ml)	Anreicherungszeit (Stunden)	Homogenisiert
Rohes Rinderhackfleisch (73 % fettarm)	325 g	975	10–18	Manuell von Hand oder durch Auswalken
Rohes Spinat im Beutel ^(a)	200 g	450	18–24	5 Minuten sanft von Hand schütteln, nicht homogenisieren
Frische Sprossen	25 g	225	18–24	5 Minuten sanft von Hand schütteln, nicht homogenisieren
Gefrorene Heidelbeeren ^{(a)(b)}	25 g	225	18–24	5 Minuten sanft von Hand schütteln, nicht homogenisieren

(a) Blattsalat- und Fruchtproben müssen für 5 Minuten sanft von Hand geschüttelt werden. Nicht mischen oder auswalken.

(b) Vor Zugabe zur Anreicherungsbouillon müssen gefrorene Proben auf 4–8 °C erwärmt werden.

NF Validation gemäß AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Für weitere Informationen zum Ablauf der Validierung siehe NF VALIDATION-Zertifikat unter der oben genannten Website.

NF VALIDATION zertifizierte Methode in Übereinstimmung mit der ISO 16140-2⁽⁸⁾ im Vergleich zur ISO 16654⁽³⁾

Einsatzgebiet der Validierung: Rohes Rindfleisch, Rohmilchprodukte, rohe Früchte und Gemüse

Probenvorbereitung: Die Proben müssen gemäß EN ISO 16654 und EN ISO 6887⁽⁶⁾ vorbereitet werden.

Softwareversion: Siehe Zertifikat

Tabelle 4. Anreicherungsprotokolle verwenden gemäß der NF VALIDATION zertifizierten Methode 3M 01/18-05/17 auf 41,5 ± 1 °C vorgewärmtes BPW ISO

Protokoll	Probengröße	Anreicherungsbouillonvolumen (ml)	Anreicherungstemperatur (± 1 °C)	Anreicherungszeit (Stunden)
Rohmilchprodukte, rohe Früchte und rohe Gemüse	25 g	225	41,5	18–24
Rohes Rindfleisch	25 g	225	41,5	8–24

HINWEISE:

- Größere Proben als 25 g wurden in der NF VALIDATION-Studie nicht getestet.
- Die empfohlenen Protokoll-Unterbrechungspunkte sind nach Anreicherung oder nach Probenlayse. Die Anreicherungsbouillon bzw. das Probenlysat kann bis zu 72 Stunden bei 2–8 °C gelagert werden. Fahren Sie mit dem Testen ab Schritt 1 im Abschnitt **Lyse** fort, nachdem Sie die Anreicherungsbouillon aus der Lagerung genommen haben. Fahren Sie mit dem Testen ab Schritt 7 im Abschnitt **Lyse** fort, nachdem Sie das Probenlysat aus der Lagerung genommen haben. Das Lysat kann auch bei -20 °C gelagert werden.
- Kurzanreicherungsprotokolle sind empfindlich gegenüber den Inkubationsbedingungen und die in den Protokollen spezifizierten Temperaturen müssen eingehalten werden. Die Temperatur des Wasserbades oder des Inkubators, in der die Bouillon vorgewärmt wird, muss geprüft werden, damit sichergestellt wird, dass die Anreicherungsbouillon die erforderliche Temperatur erreicht. Die Gesamtzeit der Probenvorbereitung, inklusive dem Verzug zwischen Ende der Vorwärmphase des Mediums und dem Beginn der Inkubation der Lebensmittelprobe, darf 45 Minuten nicht überschreiten. Die Verwendung eines belüfteten Inkubators während der Inkubation wird empfohlen.

Vorbereitung der 3M™ Molekulare Detektion – Beladehilfe

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

Vorbereitung des 3M™ Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatzes

Stellen Sie den 3M Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz direkt auf die Laborbank: Der 3M Molekulare Detektion – Kühlblockträger wird nicht verwendet. Verwenden Sie den Block bei Laborraumtemperatur (20–25 °C).

Vorbereitung des 3M™ Molekulare Detektion – Heizblockeinsatzes

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

HINWEIS: Warten Sie je nach Heizgerät etwa 30 Minuten, bis der 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die geeignete Temperatur erreicht hat. Stellen Sie mit einem kalibrierten Thermometer (z. B. ein Thermometer zum partiellen Eintauchen oder ein Digitalthermometer, kein Tauchthermometer) an der vorgesehenen Messposition fest, ob der 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die erforderliche Temperatur von 100 ± 1 °C erreicht hat.

Vorbereitung des 3M™ Molekulare Detektion – Geräts

1. Starten Sie die 3M™ Molekulare Detektion – Software und loggen Sie sich ein. Setzen Sie sich mit dem Ihrem 3M Food Safety Verkaufsvertreter in Verbindung, um sicherzustellen, dass Sie über die aktuellste Softwareversion verfügen.
2. Schalten Sie das 3M Molekulare Detektion – Gerät ein.
3. Erstellen oder bearbeiten Sie für jede Probe einen Testdurchlauf. Weitere Details entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch zum 3M™ Molekularen Detektionssystem.

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

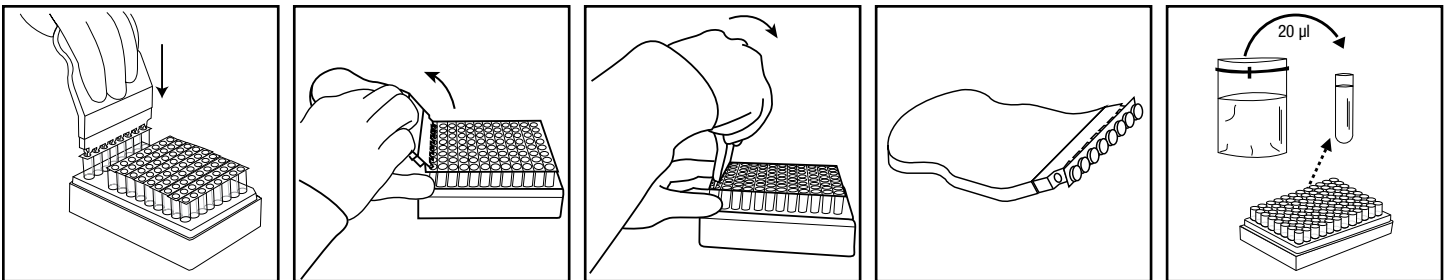
Lyse

1. Lassen Sie die 3M Lyselösung im Gefäß über Nacht (16–18 Stunden) bei Raumtemperatur (20–25 °C) aufwärmen. Um die 3M Lyselösungsgefäße auf Raumtemperatur zu erwärmen, können Sie sie für mindestens 2 Stunden auf die Laborbank stellen, für 1 Stunde bei $37 \pm 1 \text{ °C}$ inkubieren oder sie für 30 Sekunden bei 100 °C in ein Trocken-Doppelblock-Heizgerät setzen.
2. Mischen Sie die mit Kappen verschlossenen Gefäße überkopf. Fahren Sie innerhalb von 4 Stunden mit dem nächsten Schritt fort.
3. Nehmen Sie die Anreicherungsbouillon aus dem Inkubator.
4. Für jede Probe und die Negativkontrolle (NC) (steriles Anreicherungsmedium) wird jeweils ein Gefäß mit 3M Lyselösung benötigt.

- 4.1 Die 3M Lyselösung-Gefäßstreifen können auf die gewünschte 3M Lyselösung-Anzahl an Gefäßen zurechtgeschnitten werden. Wählen Sie die Anzahl der erforderlichen 3M Lyselösungsgefäße oder 8er Gefäßstreifen aus. Setzen Sie die 3M Lyselösungsgefäße in einen leeren Gefäßträger.
- 4.2 Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, öffnen Sie jeweils nur einen 3M Lyselösungs-Gefäßstreifen und verwenden Sie bei jeder einzelnen Übertragung eine neue Pipette.
- 4.3 Übertragen Sie die angereicherte Probe wie unten beschrieben auf die 3M Lyselösungsgefäße:

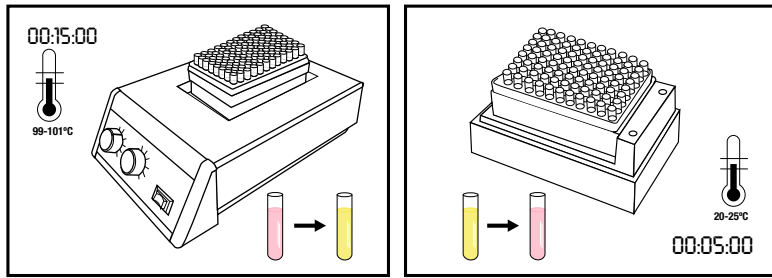
Übertragen Sie **zuerst** alle angereicherten Proben jeweils einzeln in ein 3M Lyselösungsgefäß. Übertragen Sie die NC **zuletzt**.

- 4.4 Öffnen Sie jeden 3M Streifen mit Lyselösungsgefäßen einzeln mit dem 3M™ Molekulare Detektion – Cap/Decap-Werkzeug – Lyse.
- 4.5 Entsorgen Sie die Kappen der 3M Lyselösungsgefäße. Wenn noch Lysat für weitere Tests übrig bleibt, bewahren Sie die Kappen in einem sauberen Container auf, um sie nach der Lyse wieder aufzusetzen.
 - 4.5.1 Informationen zur Verarbeitung von nicht verwendetem Lysat finden Sie in Anhang A.
- 4.6 Übertragen Sie 20 µl Probe in eine 3M Lyselösung, sofern in den Protokolltabellen 2, 3 und 4 nichts anderes angegeben ist.



5. Wiederholen Sie Schritt 4.3, bis jede einzelne Probe in ein zugeordnetes 3M Lyselösungsgefäß im Streifen gegeben wurde.
6. Wiederholen Sie bei Bedarf die Schritte 4.1 bis 4.6 bei allen zu prüfenden Proben.
7. Sobald Sie alle Proben übertragen haben, übertragen Sie 20 µl der NC (steriles Anreicherungsmedium, z. B. BPW ISO) in ein 3M Lyselösungsgefäß. Als NC kein Wasser verwenden.
8. Stellen Sie fest, ob der 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die erforderliche Temperatur von $100 \pm 1 \text{ °C}$ erreicht hat.
9. Stellen Sie den Träger ohne Deckel mit 3M Lyselösungsgefäßen in den 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz und erwärmen Sie ihn 15 Minuten ± 1 Minute lang. Dabei ändert sich die Farbe der 3M Lyselösung von rosafarben (kalt) zu gelb (heiß).
Proben, die während der Lyse nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt wurden, stellen möglicherweise ein biologisches Risiko dar und sollten NICHT in das 3M Molekulare Detektion – Gerät eingesetzt werden.
10. Nehmen Sie den Träger ohne Deckel mit den 3M Lyselösungsgefäßen aus dem Heizblockeinsatz. Lassen Sie ihn maximal 5 bis 10 Minuten lang im 3M Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz abkühlen. Der 3M Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz wird bei Raumtemperatur ohne den 3M Molekulare Detektion – Kühlblockträger verwendet und sollte direkt auf die Laborbank gesetzt werden. Wenn die Lyselösung abgekühlt ist, nimmt sie wieder eine rosa Farbe an.

11. Nehmen Sie den Träger mit den 3M Lyselösungsgefäßen aus dem 3M Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz.



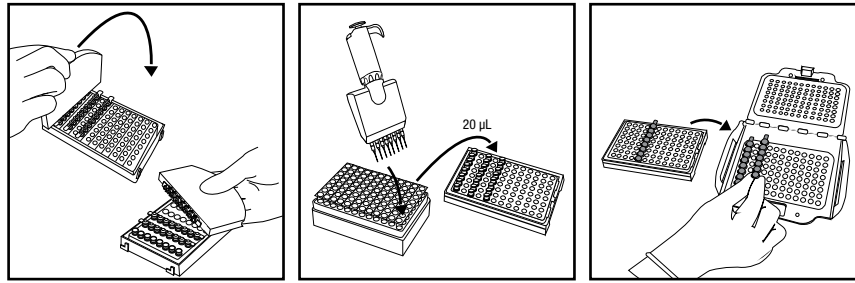
Amplifikation

1. Für jede Probe und ihre Negativkontrolle ist ein Reagenzgefäß für 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 erforderlich.
 - 1.1 Die Gefäßstreifen können auf die gewünschte Anzahl der Gefäße zurechtgeschnitten werden. Wählen Sie die Anzahl der erforderlichen Reagenzgefäße für den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 bzw. der 8er Gefäßstreifen.
 - 1.2 Stellen Sie die Reagenzgefäße für 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 in einen leeren Gefäßträger.
 - 1.3 Vermeiden Sie es, die Reagenzkügelchen im unteren Teil der Gefäße aufzurühren.
2. Wählen Sie ein Gefäß mit 3M Reagenzkontrolle und stellen Sie es in den Gefäßträger.
3. Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, öffnen Sie jeweils nur einen Reagenzgefäßstreifen des 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweises 2 und verwenden Sie bei jedem Übertragungsschritt eine neue Pipettenspitze.
4. Übertragen Sie wie nachfolgend beschrieben die einzelnen Lysate in ein Reagenzgefäß für den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 und in ein Gefäß mit 3M Reagenzkontrolle:

Übertragen Sie jedes Probenlysat **zuerst** in ein eigenes Reagenzgefäß für den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2, gefolgt von der Negativkontrolle. Hydratisieren Sie das Gefäß mit 3M Reagenzkontrolle **als letztes**.

5. Öffnen Sie die Reagenzgefäße für den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 mit dem 3M™ Molekulare Detektion – Cap/Decap-Werkzeug – Reagenz, und zwar immer nur einen Streifen auf einmal. Entsorgen Sie die Kappe.
 - 5.1 **Übertragen Sie 20 µl des Probenlysats aus der oberen Hälfte der Flüssigkeit (Ablagerungen vermeiden) im 3M Lyselösungsgefäß in das entsprechende Reagenzgefäß** für den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2. **Pipettieren Sie schräg in die Gefäße, um ein Aufrühren der Kügelchen zu vermeiden. Mischen Sie anschließend den Gefäßinhalt, indem Sie ihn 5 Mal vorsichtig auf und ab pipettieren.**
 - 5.2 Wiederholen Sie Schritt 5.1, bis Sie jedes einzelne Probenlysat einem entsprechenden Reagenzgefäß für den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 im Streifen hinzugefügt haben.
 - 5.3 Verschließen Sie die Reagenzgefäße für den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 mit den mitgelieferten zusätzlichen Kappen und üben Sie mit der abgerundeten Seite des 3M Molekulare Detektion – Cap/Decap-Werkzeugs – Reagenz in einer Vorwärts- und Rückwärtsbewegung Druck aus, um sicherzustellen, dass die Kappe fest sitzt.
 - 5.4 Wiederholen Sie bei Bedarf die Schritte 5.1 bis 5.3 bei allen zu prüfenden Proben.
 - 5.5 Sobald Sie alle Probenlysate übertragen haben, wiederholen Sie die Schritte 5.1 bis 5.3, um 20 µl des NC-Lysats in ein Reagenzgefäß für den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 zu übertragen.
 - 5.6 Übertragen Sie **20 µl des NC-Lysats in ein Gefäß mit 3M Reagenzkontrolle**. Pipettieren Sie schräg in die Gefäße, um ein Aufrühren der Kügelchen zu vermeiden. Mischen Sie anschließend den Gefäßinhalt, indem Sie ihn 5 Mal vorsichtig auf und ab pipettieren.

6. Beladen Sie eine saubere und dekontaminierte 3M Molekulare Detektion – Beladehilfe mit den mit Kappen verschlossenen Gefäßen. Schließen und verriegeln Sie die Klappe.



7. Überprüfen und bestätigen Sie die Konfiguration des Testdurchlaufs in der 3M Molekulare Detektion – Software.
 8. Klicken Sie auf die Schaltfläche „Start“ in der Software und wählen Sie anschließend das zu verwendende Gerät aus. Die Klappe des gewählten Geräts öffnet sich automatisch.
 9. Setzen Sie die 3M Molekulare Detektion – Beladehilfe in das 3M Molekulare Detektion – Gerät und schließen Sie die Klappe, um mit dem Test zu beginnen. Die Ergebnisse sind innerhalb von 60 Minuten verfügbar, obgleich positive Ergebnisse möglicherweise schneller erfasst werden.
 10. Nehmen Sie nach Abschluss des Tests die 3M Molekulare Detektion – Beladehilfe aus dem 3M Molekulare Detektion – Gerät und entsorgen Sie die Gefäße, indem Sie sie 1 Stunde lang in ausreichender Entfernung vom Vorbereitungsbereich in einer 1-5%igen Haushaltsbleichmittellösung (v:v in Wasser) einweichen.

HINWEIS: Um das Risiko eines falsch positiven Ergebnisses infolge einer Kreuzkontamination zu minimieren, öffnen Sie niemals Reagenzgefäße, die amplifizierte DNS enthalten. Dies betrifft die 3M Reagenzkontrolle, Reagenzgefäße für den 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 und Gefäße für die 3M Matrixkontrolle. Entsorgen Sie die verschlossenen Reagenzgefäße, indem Sie sie 1 Stunde lang in ausreichender Entfernung vom Vorbereitungsbereich in einer 1–5%igen Haushaltsbleichmittellösung (v:v in Wasser) einweichen.

Auslegung der Ergebnisse

Die durch die Detektion der Nukleinsäureamplifikation entstehende Lichtkurve wird anhand eines Algorithmus ausgewertet. Die Ergebnisse werden automatisch von der Software analysiert und je nach Ergebnis farbcodiert. Ein positives oder negatives Ergebnis wird durch die Analyse einer bestimmten Anzahl an eindeutigen Kurvenparametern bestimmt. Die vorläufigen positiven Ergebnisse werden in Echtzeit erstellt, während negative und zu überprüfende Ergebnisse erst nach Abschluss des Testdurchlaufs dargestellt werden.

Vorläufig positive Ergebnisse sollten anhand der Standardarbeitsanweisung (SOP) für Laboratorien oder durch das anschließende Referenzverfahren^(1,2,3) bestätigt werden, beginnend mit der Übertragung aus der Erstanreicherung mit BPW ISO in die Zweitanreicherungsbouillon, gefolgt von anschließendem Ausplattieren und Bestätigen von Isolaten mittels geeigneter biochemischer und serologischer Verfahren.

HINWEIS: Selbst ein negatives Ergebnis führt nicht zu einem Ergebnis von null, da das System und die Amplifikationsreagenzien des 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweises 2 über einen „Hintergrund“ verfügen, der in relativem Verhältnis zur Lichteinheit (RLU) steht.

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

Bei abweichenden Ergebnissen (mutmaßlich positiven beim 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2, unbestätigten Ergebnissen eines der zuvor genannten Verfahren und insbesondere für die Latexpartikel-Agglutination) muss das Labor die erforderlichen Maßnahmen befolgen, um die Richtigkeit der erhaltenden Ergebnisse sicherzustellen.

Bestätigung der Ergebnisse anhand der zertifizierten NF VALIDATION-Methode

Alle im Rahmen der NF VALIDATION vom 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 als positiv identifizierte Proben müssen durch einen der nachfolgenden Tests bestätigt werden:

Option 1: Nach ISO 16654⁽³⁾ standardmäßig mit Anreicherung von gepuffertem Peptonwasser⁽³⁾.

Option 2: Durchführung eines Bestätigungsverfahrens mit Folgendem: Verstreichen Sie 50 µl der Anreicherung mit gepuffertem Peptonwasser⁽³⁾ auf eine Cefixime Potassium Tellurite Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾-Agarplatte. Inkubieren Sie sie für 24 ± 3 Stunden bei 37 °C. Streichen Sie charakteristische Kolonien auf dem Nähragar aus und führen Sie eine Latexpartikel-Agglutination direkt auf den isolierten Kolonien durch. Werden die Ergebnisse des 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweises 2 nicht bestätigt, führen Sie eine immunomagnetische Separation durch und verstreichen 50 µl auf dem CT-SMAC.

Option 3: Verwenden Sie die in der EN ISO 7218⁽⁵⁾ beschriebenen Nukleinsäure-Sonden, die auf den isolierten Kolonien (gereinigt oder nicht) des CT-SMAC ausgeführt werden (siehe Optionen 1 oder 2). Die Nukleinsäure-Sonden müssen sich von den im 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 verwendeten unterscheiden.

Option 4: Beim Verwenden einer anderen zertifizierten NF VALIDATION-Methode muss sich das grundsätzliche Verfahren vom 3M Molekulare Detektion – *E. coli* O157 (einschl. H7) Nachweis 2 unterscheiden. Das gesamte für diese zweite gesicherte Methode beschriebene Protokoll muss befolgt werden. Vor dem Beginn der Bestätigung müssen alle Schritte für beide Methoden allgemein bekannt sein.

Bei abweichenden Ergebnissen (mutmaßlich positiven beim der alternativen Methode, unbestätigten Ergebnissen eines der zuvor genannten Verfahren) muss das Labor die erforderlichen Maßnahmen befolgen, um die Richtigkeit der erhaltenden Ergebnisse sicherzustellen.

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

Anhang A. Unterbrechungen: Lagerung und erneutes Testen von Proben

1. Um ein wärmebehandeltes Lysat zu lagern, setzen Sie eine saubere Kappe auf das Lysegefäß (siehe **Lyse**, Abschnitt 4.5).
2. Zum Lagern einer angereicherten Probe, inkubieren Sie diese mindestens 18 Stunden lang vor der Einlagerung.
3. Lagern Sie sie bis zu 72 Stunden bei 4 bis 8 °C.
4. Bereiten Sie eine gelagerte Probe zur Amplifikation vor, indem Sie sie zum Mischen 2 bis 3 Mal umdrehen.
5. Entkappen Sie die Gefäße.
6. Setzen Sie die gemischten Lysatgefäße in den 3M Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz und erwärmen Sie sie 5 Minuten ± 1 Minute lang bei 100 ± 1 °C.
7. Nehmen Sie den Träger mit den 3M Lyselösungsgefäßen aus dem Heizblockeinsatz. Lassen Sie ihn maximal 5 bis 10 Minuten lang im 3M Molekulares Detektion – Kühlblockeinsatz abkühlen.
8. Setzen Sie das Protokoll ab dem oben beschriebenen Abschnitt **Amplifikation** fort.

Literaturnachweise:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Erklärung der Symbole

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Istruzioni sul prodotto

Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7)

Descrizione del prodotto e uso previsto

L'Analisi molecolare 3M™ di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) è utilizzata con il Sistema per l'analisi molecolare 3M™ per il rilevamento rapido e specifico di *E. coli* O157 (compreso H7) in campioni di alimenti e di mangimi arricchiti.

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

L'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) è destinata all'uso in un ambiente di laboratorio da parte di professionisti formati in tecniche di laboratorio. 3M non ha documentato l'utilizzo del presente prodotto in settori diversi da quello alimentare e delle bevande. Ad esempio, 3M non ha documentato il presente prodotto per l'analisi su campioni di tipo ambientale, farmaceutico, cosmetico, clinico o veterinario. L'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) non è stata valutata con tutti i possibili prodotti alimentari, processi alimentari, protocolli di test o ceppi di batteri.

Come tutti i metodi analitici, i risultati possono essere influenzati dall'origine, dalla formulazione e dalla qualità del terreno di arricchimento. Anche fattori quali i metodi di campionamento, i protocolli di analisi, la preparazione del campione, la manipolazione e le tecniche di laboratorio possono influenzare i risultati. 3M consiglia la valutazione del metodo, compreso il terreno di arricchimento, nell'ambiente dell'utente, utilizzando un numero sufficiente di campioni che presentano particolari caratteristiche alimentari e microbiche, per assicurare che il metodo soddisfi i criteri dell'utente.

3M ha valutato l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) con Acqua Peptonata Tamponata ISO.

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

3M Food Safety è certificata ISO (International Organization for Standardization) 9001 per la progettazione e la produzione.

Il kit di prova per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) è composto da 96 test, descritti nella Tabella 1.

Tabella 1. Componenti del kit di analisi molecolare 3M

Articolo	Identificazione	Quantità	Contenuto	Commenti
Soluzione di lisi (LS) 3M™	Soluzione rosa in tubi trasparenti	96 (12 strisce da 8 tubi)	580 µl di Soluzione di lisi 3M per tubo	In rastrelliera e pronti all'uso
Tubi di reagente per l'Analisi molecolare 3M™ di seconda generazione per il rilevamento di <i>E. coli</i> O157 (compreso H7)	Tubi rosa	96 (12 strisce da 8 tubi)	Miscela di rilevamento e amplificazione specifica liofilizzata	Pronti all'uso
Tappi supplementari	Tappi rosa	96 (12 strisce da 8 tappi)		Pronti all'uso
Controllo reagente 3M™ (RC)	Tubi trasparenti con apertura a scatto	16 (2 buste da 8 tubi singoli)	Miscela di rilevamento e amplificazione DNA di controllo liofilizzata	Pronti all'uso
Guida introduttiva rapida		1		

Il controllo negativo, non fornito nel kit, è un terreno di arricchimento sterile, ad esempio BPW ISO. Non utilizzare l'acqua come Controllo negativo.



Sicurezza

L'utente è tenuto a leggere, comprendere e seguire tutte le informazioni per la sicurezza contenute nelle istruzioni del Sistema per l'analisi molecolare 3M e dell'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7). Conservare le istruzioni di sicurezza per poterle consultare in futuro.

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

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

⚠ AVVERTENZA

Non utilizzare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) per la diagnosi delle condizioni di soggetti umani o animali.

L'utente deve addestrare il proprio personale nell'esecuzione corretta delle tecniche di prova: ad esempio, buone prassi di laboratorio, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾, o ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Attenersi al protocollo ed eseguire i test esattamente come descritto nelle Istruzioni sul prodotto.
- Usare terreno preriscaldato a $41,5 \pm 1$ °C. Non lasciare che il terreno scenda sotto l'intervallo di temperatura di incubazione durante la preparazione del campione.
- Conservare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) come indicato sulla confezione e nelle Istruzioni sul prodotto.
- Utilizzare sempre l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) entro la data di scadenza.
- Utilizzare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) con campioni ambientali di alimenti, di mangimi e di processi alimentari che sono stati convalidati internamente o da terzi.
- Utilizzare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) solo con superfici, disinfettanti, protocolli e ceppi di batteri che sono stati validati internamente o da terzi.
- Per un campione ambientale contenente un Tampone Neutralizzante (NB) con il complesso di aril solfonato, eseguire una diluizione in rapporto 1:2 prima di eseguire il test (1 parte di campione in 1 parte di brodo di arricchimento sterile). Un'altra opzione consiste nel trasferire 10 µl di arricchimento del tampone neutralizzante all'interno dei tubi per Soluzione di lisi 3M. Prodotti per il trattamento dei campioni di 3M™ che includono Tampone Neutralizzante 3M™ con complesso aril-solfonato: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB e HS119510NB.

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

- Eseguire un test per patogeni in un laboratorio adeguatamente equipaggiato, sotto la supervisione di personale esperto. Il terreno di arricchimento incubato e le attrezzature o le superfici che sono venute in contatto con il terreno di arricchimento incubato potrebbero contenere patogeni a livelli sufficienti da comportare rischi per la salute umana.
- Durante la manipolazione di reagenti e campioni contaminati, seguire sempre le pratiche standard di sicurezza di laboratorio, compreso l'utilizzo di abbigliamento protettivo e protezioni appropriate per gli occhi.
- Evitare il contatto con il contenuto dei tubi di reagente e del terreno di arricchimento dopo l'amplificazione.
- Smaltire i campioni arricchiti e i rifiuti contaminati associati conformemente agli attuali standard locali/regionali/nazionali/di settore.
- Non superare l'impostazione di temperatura raccomandata sul riscaldatore.
- Non superare il tempo di riscaldamento raccomandato.
- Utilizzare un termometro calibrato e appropriato per verificare la temperatura dell'Insero del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M™ (ad es., un termometro a immersione parziale o con termocoppia digitale, non un termometro a immersione totale). Il termometro deve essere collocato nella posizione indicata nell'Insero del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M.

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

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

Per ridurre i rischi associati all'esposizione a liquidi caldi

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



AVVISO

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

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

Per ridurre i rischi associati a un risultato falso positivo

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

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

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

Responsabilità dell'utente

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

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

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

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

Come per qualsiasi metodo di analisi, i risultati ottenuti grazie al prodotto di 3M Food Safety non costituiscono una garanzia della qualità delle matrici o dei processi sottoposti a prova.

Per aiutare i clienti nella valutazione del metodo per le varie matrici alimentari, 3M ha elaborato il kit di Controllo della matrice di rilevamento molecolare 3M™. Quando necessario, utilizzare il Controllo della matrice (MC) per determinare se questa sia in grado di influenzare i risultati dell'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7). Durante il periodo di valutazione - in caso di adozione di un metodo 3M - o durante l'esecuzione di test su matrici nuove o sconosciute o su matrici che hanno subito modifiche nelle materie prime o nella lavorazione, analizzare numerosi campioni rappresentativi della matrice, cioè campioni di diversa origine.

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

Limitazione di garanzia/Rimedio limitato

SALVO NEI CASI ESPRESSAMENTE INDICATI IN UNA SEZIONE DI GARANZIA LIMITATA DELLA CONFEZIONE DEL SINGOLO PRODOTTO, 3M NON RICONOSCE ALCUNA GARANZIA ESPLICITA O IMPLICITA, INCLUSE, MA NON A ESSE LIMITATE, LE EVENTUALI GARANZIE DI COMMERCIALIZZABILITÀ O DI IDONEITÀ A UNO SCOPO PARTICOLARE.

Qualora un prodotto della 3M Food Safety sia difettoso, 3M o il suo distributore autorizzato provvederanno, a loro discrezione, alla sostituzione o al rimborso del prezzo d'acquisto del prodotto. Questi sono gli unici rimedi a disposizione del cliente. Si dovrà avvisare immediatamente 3M entro sessanta giorni dal riscontro di eventuali difetti sospetti nel prodotto, provvedendo a rispedirlo a 3M. Chiamare il servizio clienti (negli USA: 1-800-328-1671) o rivolgersi al rappresentante autorizzato della 3M Food Safety per ottenere l'Autorizzazione alla restituzione del prodotto.

Limitazione di responsabilità da parte di 3M

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

Conservazione e smaltimento

Conservare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) a 2-8 °C. Non congelare. Conservare il kit lontano da fonti luminose. Dopo aver aperto il kit, verificare che la busta d'alluminio non risulti danneggiata. Qualora la busta d'alluminio fosse danneggiata, non utilizzare i prodotti contenuti all'interno. Dopo l'apertura, i tubi di reagente inutilizzati dovrebbero essere sempre conservati in una busta richiudibile con essiccante all'interno per mantenere la stabilità dei reagenti liofilizzati. Conservare le buste richiudibili a 2-8 °C per non oltre 60 giorni.

Non utilizzare l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) dopo la data di scadenza. La data di scadenza e il numero di lotto sono riportati sull'etichetta esterna della scatola. Dopo l'utilizzo, il terreno di arricchimento e i tubi per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) possono potenzialmente contenere materiali patogeni. Una volta completato il test, attenersi agli standard di settore vigenti in materia di smaltimento di rifiuti contaminati. Per ulteriori informazioni, consultare la Scheda di sicurezza dei materiali e le normative locali per lo smaltimento.

Istruzioni per l'uso

Seguire attentamente tutte le istruzioni. In caso contrario, si rischia di ottenere risultati non precisi.

L'utente è tenuto a completare la formazione di qualifica operatore per il Sistema per l'analisi molecolare 3M, come descritta nel documento "Protocolli di qualifica per l'installazione (IQ)/qualifica operativa (OQ) e istruzioni del Sistema per l'analisi molecolare 3M"⁽⁷⁾.

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

Per i requisiti specifici, consultare la sezione "Istruzioni specifiche per metodi validati":

Tabella 3 per i protocolli di arricchimento secondo AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

Tabella 4 per i protocolli di arricchimento secondo il certificato NF Validation 3M 01/18-05/17

Arricchimento del campione

Le tabelle 2, 3 o 4 presentano una guida ai protocolli di arricchimento per alimenti. È responsabilità dell'utente convalidare protocolli di campionamento o rapporti di diluizione alternativi, per assicurare che il presente metodo di test soddisfi i propri criteri.

Alimenti

1. Preriscaldare il terreno di arricchimento BPW ISO a $41,5 \pm 1$ °C.
2. Unire asetticamente il terreno di arricchimento al campione in base alle tabelle 2, 3 o 4. Per tutti i campioni di carne e a elevato numero di particelle, si consiglia l'utilizzo di sacchetti con filtro.
3. Omogeneizzare bene tutte le matrici tranne la verdura a foglia e la frutta, miscelando con miscelatore o agitatore o a mano per $2 \pm 0,2$ minuti. Incubare a $41,5 \pm 1$ °C per il tempo appropriato in base alle tabelle 2, 3 o 4.

Tabella 2. Protocolli di arricchimento generici

Matrice campione ^(a)	Dimensione campione	Volume brodo di arricchimento (ml)	Temperatura di arricchimento (± 1 °C)	Tempo di arricchimento (ore)
Carne di manzo cruda, anche tritata/macinata o rifilata	325 g	975 BPW ISO (preriscaldato)	41,5	10-18
Carni crude compreso manzo, maiale, pollame, agnello e bisonte	25 g	225 BPW ISO (preriscaldato)	41,5	8-18
Verdura a foglia ^(b)	200 g	450 BPW ISO (preriscaldato)	41,5	18-24
Altri alimenti compresa frutta ^(b) , verdura, succhi di frutta/verdura, erbe aromatiche fresche, frutti di mare crudi, uova crude, latte crudo, impasto per biscotti e carni lavorate	25 g	225 BPW ISO (preriscaldato)	41,5	18-24
Noci o mix di frutta secca contenenti noci (questo protocollo è idoneo per altri tipi di frutta secca tra cui noci pecan, mandorle, pistacchi, anacardi e castagne)	25 g	225 latte magro in polvere ricostituito	41,5	18-24

(a) I campioni congelati devono essere equilibrati a 4-8 °C prima di aggiungerli al brodo di arricchimento.

(b) I campioni di verdura a foglia e frutta devono essere delicatamente agitati a mano per 5 minuti. Non usare miscelatore o agitatore.

Istruzioni specifiche per metodi validati

AOAC® *Official Methods of Analysis*SM 2017.01

Nel programma AOAC *Official Method of Analysis*SM, l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) è risultata essere un efficace metodo per il rilevamento di *E. coli* O157:H7. Le matrici testate nello studio sono riportate nella Tabella 3.

Tabella 3. Protocolli di arricchimento che usano BPW ISO preriscaldato a $41,5 \pm 1$ °C secondo AOAC® *Official Methods*SM 2017.01

Matrice campione	Dimensione campione	Volume brodo di arricchimento (ml)	Tempo di arricchimento (ore)	Omogeneizzazione
Carne di manzo cruda macinata (massa magra 73%)	325 g	975	10-18	Manualmente o con miscelatore
Spinaci crudi in busta ^(a)	200 g	450	18-24	Delicatamente agitati a mano per 5 minuti, non omogeneizzare
Germogli freschi	25 g	225	18-24	Delicatamente agitati a mano per 5 minuti, non omogeneizzare
Mirtilli congelati ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	Delicatamente agitati a mano per 5 minuti, non omogeneizzare

(a) I campioni di verdura a foglia e frutta devono essere delicatamente agitati a mano per 5 minuti. Non usare miscelatore o agitatore.

(b) I campioni congelati devono essere equilibrati a 4-8 °C prima di aggiungerli al brodo di arricchimento.

NF Validation concessa dalla AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Per maggiori informazioni sulla scadenza, consultare il certificato NF VALIDATION, disponibile sul sito web menzionato in precedenza.

Metodo certificato NF VALIDATION in conformità a ISO 16140-2⁽⁸⁾ in confronto a ISO 16654⁽³⁾

Ambito della validazione: carne di manzo cruda, prodotti lattiero-caseari crudi, frutta e verdura crude

Preparazione del campione: i campioni devono essere preparati secondo EN ISO 16654 ed EN ISO 6887⁽⁶⁾

Versione del software: vedere il certificato

Tabella 4. Protocolli di arricchimento che usano BPW ISO preriscaldato a $41,5 \pm 1$ °C secondo il metodo certificato NF VALIDATION 3M 01/18-05/17

Protocollo	Dimensione campione	Volume brodo di arricchimento (ml)	Temperatura di arricchimento (± 1 °C)	Tempo di arricchimento (ore)
Prodotti lattiero-caseari crudi, frutta e verdura crude	25 g	225	41,5	18-24
Carne di manzo cruda	25 g	225	41,5	8-24

**NOTA:**

- I campioni superiori ai 25 g non sono stati testati nello studio NF VALIDATION.
- I punti consigliati di interruzione del protocollo sono dopo l'arricchimento o dopo la lisi del campione. Il brodo di arricchimento o lisato campione può essere conservato a 2-8 °C fino a 72 ore. Dopo aver rimosso il brodo di arricchimento dal luogo di conservazione, riprendere il test dal Punto 1 nella sezione **Lisi**. Dopo aver rimosso il lisato campione dal luogo di conservazione, riprendere il test dal Punto 7 nella sezione **Lisi**. Il lisato può essere conservato a -20 °C.
- I protocolli di arricchimento brevi sono sensibili alle condizioni di incubazione e le temperature specificate nel protocollo devono essere rispettate. Verificare la temperatura del sistema a bagnomaria o incubatore in cui i brodi vengono preriscaldati per assicurare che il brodo di arricchimento raggiunga la temperatura richiesta. Il tempo complessivo di preparazione del campione, compreso il ritardo tra la fine della fase di preriscaldamento del terreno e l'inizio dell'incubazione del campione alimentare, non deve superare i 45 minuti. Si consiglia l'uso di un incubatore ventilato durante l'incubazione.

Preparazione del Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare 3M™

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

Preparazione Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare 3M™

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

Preparazione dell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M™

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

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

Preparazione dello Strumento per l'analisi molecolare 3M™

1. Avviare il software per l'analisi molecolare 3M™ ed eseguire l'accesso. Contattare il proprio rappresentante 3M Food Safety per verificare che la versione del software in uso sia quella più aggiornata.
2. Accendere lo Strumento per l'analisi molecolare 3M.
3. Creare o modificare un'analisi con i dati per ciascun campione. Fare riferimento al Manuale per l'utente del Sistema per l'analisi molecolare 3M™ per i dettagli.

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

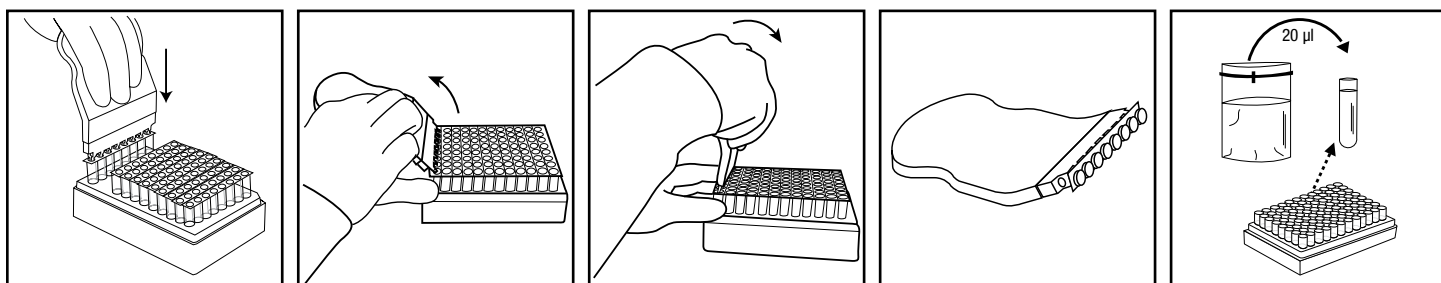
Lisi

1. Far riscaldare i tubi per Soluzione di lisi 3M lasciando la rastrelliera a temperatura ambiente (20-25 °C) per una notte (16-18 ore). Le alternative per equilibrare i tubi per Soluzione di lisi 3M a temperatura ambiente sono: posizionare i tubi per soluzione di lisi 3M sul banco di laboratorio per almeno 2 ore; incubare i tubi per soluzione di lisi 3M in un incubatore a 37 ± 1 °C per 1 ora oppure posizionarli in un'unità riscaldante a secco con doppio blocco per 30 secondi a 100 °C.
2. Capovolgere i tubi provvisti di tappo per miscelare. Procedere con la fase successiva entro 4 ore.
3. Rimuovere il brodo di arricchimento dall'incubatore.

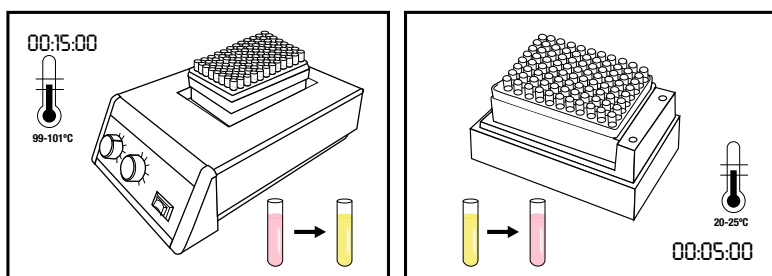
4. È necessario un tubo per Soluzione di lisi 3M per ciascun campione e per il campione Controllo Negativo (NC) (terreno di arricchimento sterile).
 - 4.1 Le strisce di tubi per Soluzione di lisi 3M possono essere tagliate nel numero di tubi per Soluzione di lisi 3M desiderato. Selezionare il numero necessario di strisce dei tubi della Soluzione di lisi 3M singole o da 8 tubi. Posizionare i tubi per Soluzione di lisi 3M in una rastrelliera vuota.
 - 4.2 Al fine di evitare la contaminazione crociata, stappare una striscia di tubi per Soluzione di lisi 3M alla volta e utilizzare una nuova punta di pipetta per ciascuna fase di trasferimento.
 - 4.3 Trasferire il campione arricchito nei tubi per Soluzione di lisi 3M come descritto di seguito:

Trasferire **innanzitutto** ciascun campione arricchito in un tubo per Soluzione di lisi 3M singolo. Trasferire l'NC **per ultimo**.

- 4.4 Utilizzare lo Strumento di inserimento/rimozione del tappo per il rilevamento molecolare 3M™ - Lisi per rimuovere il tappo da una striscia di tubi per Soluzione di lisi 3M, una striscia alla volta.
- 4.5 Gettare via il tappo del tubo per Soluzione di lisi 3M; se il lisato viene conservato per effettuare nuovamente il test, posizionare i tappi in un contenitore pulito per consentirne la riapplicazione dopo la lisi.
 - 4.5.1 Per l'elaborazione del lisato conservato, consultare l'Appendice A.
- 4.6 Trasferire 20 µl di campione in un tubo di Soluzione di lisi 3M, a meno che non venga indicato altrimenti nelle tabelle dei protocolli 2, 3 o 4.



5. Ripetere il punto 4.3 finché ciascun singolo campione non è stato aggiunto al tubo di Soluzione di lisi 3M corrispondente nella striscia.
6. Ripetere i punti da 4.1 a 4.6 fin quando è necessario, per il numero di campioni da testare.
7. Quando tutti i campioni sono stati trasferiti, trasferire 20 µl di NC (terreno di arricchimento sterile, ad esempio BPW ISO) in un tubo per Soluzione di lisi 3M. Non utilizzare l'acqua come NC.
8. Verificare che la temperatura dell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M sia a $100 \pm 1^\circ\text{C}$.
9. Posizionare la rastrelliera per tubi per Soluzione di lisi 3M, scoperta, nell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M e riscaldare per 15 ± 1 minuti. Durante il riscaldamento, la Soluzione di lisi 3M virerà dal rosa (freddo) al giallo (caldo).
I campioni non correttamente trattati termicamente durante la fase di lisi dell'analisi possono essere considerati un potenziale rischio biologico e NON devono essere inseriti nello Strumento per l'analisi molecolare 3M.
10. Rimuovere la rastrelliera scoperta dei tubi della Soluzione di lisi 3M dal blocco di calore e lasciarla raffreddare nel Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare 3M per almeno 5 minuti e per un massimo di 10 minuti. Il Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare 3M, utilizzato a temperatura ambiente senza il Vassoio per blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare 3M, deve essere posto direttamente sul banco del laboratorio. Quando è fredda, la soluzione di lisi torna a essere di colore rosa.
11. Rimuovere la rastrelliera dei tubi per soluzione di lisi 3M dal Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare 3M.

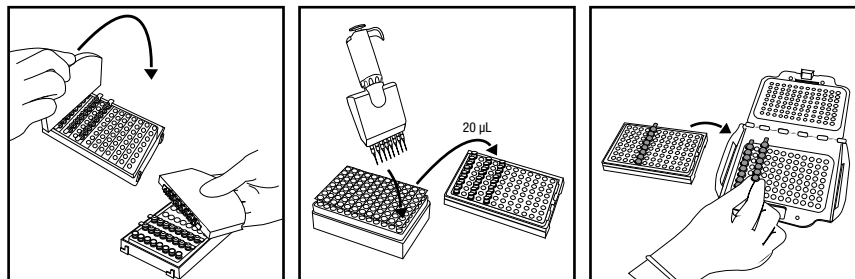


Amplificazione

1. È richiesto un tubo di reagente per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) per ciascun campione e l'NC.
 - 1.1 Le strisce dei tubi possono essere tagliate nel numero di tubi desiderato. Selezionare il numero necessario di tubi di reagente singoli o di strisce da 8 tubi per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7).
 - 1.2 Posizionare i tubi di reagente per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) in una rastrelliera vuota.
 - 1.3 Evitare di spostare le pastiglie di reagente poste sul fondo dei tubi.
2. Selezionare un tubo di Controllo reagente 3M e posizionarlo nella rastrelliera.
3. Al fine di evitare la contaminazione crociata, rimuovere i tappi da una striscia di tubi di reagente per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) alla volta e utilizzare una nuova punta di pipetta per ciascuna fase di trasferimento.
4. Trasferire il lisato in un tubo di reagente per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) e un tubo di Controllo reagente 3M come indicato di seguito:

Trasferire **innanzitutto** ciascun lisato campione nei tubi di reagente singoli per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7), quindi trasferire l'NC. Idratare il tubo di Controllo reagente 3M **per ultimo**.

5. Utilizzare lo Strumento di inserimento/rimozione del tappo per il rilevamento molecolare 3M™ - Reagente per rimuovere il tappo da un tubo di reagente per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7), una striscia di tubi per volta. Gettare il tappo.
 - 5.1 **Trasferire 20 µl di Lisato campione dalla metà superiore del liquido (evitare il deposito) di un tubo per Soluzione di lisi 3M nel corrispondente Tubo di reagente** per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7). **Erogare con un'inclinazione per evitare il movimento delle pastiglie. Miscelare pipettando delicatamente su e giù per 5 volte.**
 - 5.2 Ripetere il punto 5.1 finché ciascun lisato campione non è stato aggiunto al corrispondente tubo di reagente per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) nella striscia.
 - 5.3 Chiudere i tubi di reagente per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) con i tappi supplementari forniti e utilizzare il lato arrotondato dello Strumento di inserimento/rimozione del tappo per il rilevamento molecolare 3M - Reagente per applicare pressione con un movimento in avanti e indietro assicurandosi di stringere bene il tappo.
 - 5.4 Ripetere i punti da 5.1 a 5.3 fin quando è necessario, per il numero di campioni da testare.
 - 5.5 Quando tutti i lisati campioni sono stati trasferiti, ripetere i punti da 5.1 a 5.3 per trasferire 20 µl di lisato NC in un tubo di reagente per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7).
 - 5.6 **Trasferire 20 µl di lisato NC in un tubo di Controllo reagente 3M.** Erogare con un'inclinazione per evitare il movimento delle pastiglie. Miscelare pipettando delicatamente su e giù per 5 volte.
6. Caricare i tubi provvisti di tappo su un Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare 3M pulito e decontaminato. Quindi chiudere saldamente il coperchio.



7. Controllare e confermare l'analisi configurata sul Software per l'analisi molecolare 3M.
8. Fare clic sul pulsante Start nel software e selezionare lo strumento da utilizzare. Il coperchio dello strumento selezionato si apre automaticamente.



9. Posizionare il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare 3M nello Strumento per l'analisi molecolare 3M e chiudere il coperchio per avviare l'analisi. I risultati sono forniti entro 60 minuti, sebbene quelli positivi possano essere rilevati prima.
10. Una volta completata l'analisi, rimuovere il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare 3M dallo Strumento per l'analisi molecolare 3M e smaltire i tubi immergendoli in una soluzione di candeggina per uso domestico 1-5% (diluita con acqua v:v) per 1 ora e lontano dall'area di preparazione dell'analisi.

AVVISO: per ridurre il rischio di falsi positivi dovuti alla contaminazione crociata, non aprire mai i tubi di reagente contenenti DNA amplificato. Questo comprende il Controllo reagente 3M, il tubo di reagente per l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) e i tubi di Controllo della matrice 3M. Smaltire sempre i tubi di reagente sigillati immergendoli in una soluzione di candeggina per uso domestico 1-5% (diluita con acqua v:v) per 1 ora e lontano dall'area di preparazione dell'analisi.

Risultati e interpretazione

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

I risultati presunti positivi vanno confermati in base alle procedure operative standard del laboratorio o seguendo un metodo di conferma appropriato^(1,2,3), iniziando dal trasferimento dall'arricchimento primario BPW ISO a uno o più brodi di arricchimento secondari, seguito dall'applicazione di un disco e dalla conferma degli isolati utilizzando metodi biochimici e sierologici adeguati.

NOTA: anche un campione negativo non fornirà una lettura zero poiché il sistema e i reagenti di amplificazione dell'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) riportano un valore di "background" dell'unità di luce relativa (RLU).

Nel raro caso di emissione luminosa insolita, l'algoritmo la classifica come "Da esaminare". 3M consiglia all'utente di ripetere l'analisi per qualsiasi campione da esaminare. Se il risultato continua a essere Da esaminare, procedere con il test di conferma utilizzando il proprio metodo di elezione o come specificato dalle normative locali.

Nel caso di eventi discordanti (presunto positivo con l'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7), non confermato da uno dei mezzi suindicati, e in particolare per il test di agglutinazione al lattice), il laboratorio deve agire di conseguenza per garantire la validità dei risultati ottenuti.

Conferma dei risultati secondo il metodo certificato NF VALIDATION

Nel contesto del NF VALIDATION, tutti i campioni identificati come positivi dall'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) devono essere confermati da uno dei seguenti test:

Opzione 1: utilizzando lo standard ISO 16654⁽³⁾ iniziando dall'arricchimento con acqua peptonata tamponata⁽³⁾.

Opzione 2: applicando un metodo di conferma che consiste in quanto segue: strisciare 50 µl dell'arricchimento con acqua peptonata tamponata⁽³⁾ su una piastra di MacConkey Sorbitol Agar + cefixime e potassio tellurito (CT-SMAC)⁽³⁾. Incubare per 24 ± 3 ore a 37 °C. Strisciare le colonie caratteristiche su agar nutriente ed eseguire il test di agglutinazione al lattice direttamente sulle colonie isolate. Se i risultati dell'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7) non vengono confermati, eseguire un passaggio di separazione immunomagnetica quindi strisciare 50 µl su CT-SMAC.

Opzione 3: utilizzando sonde di acido nucleico come descritto nello standard EN ISO 7218⁽⁵⁾, con esecuzione su colonie isolate (purificate o meno) da CT-SMAC (vedere opzione 1 o 2). Le sonde di acido nucleico devono essere diverse da quelle usate nell'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7).

Opzione 4: utilizzando un altro metodo certificato NF VALIDATION, il cui principio deve essere differente da quello dell'Analisi molecolare 3M di seconda generazione per il rilevamento di *E. coli* O157 (compreso H7). Deve essere usato il protocollo completo descritto per questo secondo metodo validato. Tutti i passaggi precedenti all'inizio della conferma devono essere comuni a entrambi i metodi.

Nel caso di risultati discordanti (presunto positivo con il metodo alternativo, non confermato da uno dei mezzi suindicati), il laboratorio deve agire di conseguenza per garantire la validità dei risultati ottenuti.

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



Appendice A. Interruzione del protocollo: conservazione e ripetizione del test sui campioni

1. Per conservare un lisato trattato con calore, richiudere il tubo di lisi con un tappo pulito (vedere la sezione **Lisi**, 4.5).
2. Per conservare un campione arricchito incubare per almeno 18 ore prima della conservazione.
3. Conservare a 4-8 °C fino a 72 ore.
4. Preparare il campione conservato per l'amplificazione capovolgendolo 2-3 volte per miscelarlo.
5. Togliere il tappo ai tubi.
6. Collocare i tubi di lisato miscelato sull'Insero del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare 3M e riscaldare a 100 ± 1 °C per 5 ± 1 minuti.
7. Rimuovere la rastrelliera dei tubi della Soluzione di lisi 3M dal blocco di calore e lasciarla raffreddare nel Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare 3M per almeno 5 minuti e per un massimo di 10 minuti.
8. Continuare il protocollo indicato nella sezione **Amplificazione** illustrata sopra.

Bibliografia

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Legenda dei simboli

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Instrucciones del Producto

Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7)

Descripción del producto y uso previsto

El Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M™ se utiliza con el Sistema de Detección Molecular 3M™ para la detección específica y rápida de *E. coli* O157 (incluido H7) en muestras enriquecidas de alimentos y muestras de alimento para animales.

Los Análisis de Detección Molecular 3M usan amplificación isotérmica tipo LAMP (por sus siglas en inglés) para amplificar rápidamente las secuencias de ácido nucleico con alta especificidad y sensibilidad, combinadas con bioluminiscencia para detectar la amplificación. Los resultados presuntamente positivos se reportan en tiempo real, mientras que los resultados negativos se revelan una vez terminado el ensayo. Los resultados presuntamente positivos se deben confirmar con su método de preferencia, o según se especifique en las regulaciones locales^(1, 2, 3).

El Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M está previsto para el uso en laboratorios por profesionales capacitados en el empleo de técnicas de laboratorio. 3M no documentó el uso de este producto en otras industrias que no sean la alimentaria o la de bebidas. Por ejemplo, 3M no documentó este producto para el análisis de muestras ambientales, farmacéuticas, cosméticas, clínicas o veterinarias. El Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M no ha sido evaluado con todos los productos alimenticios, procesos alimenticios, protocolos de evaluación ni con todas las cepas de bacterias posibles.

Como con todos los métodos de prueba, el origen, la formulación y la calidad del medio de enriquecimiento pueden influir sobre los resultados. Factores tales como los métodos de muestreo, los protocolos de análisis, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio también pueden afectar los resultados. 3M recomienda la evaluación del método lo que incluye el medio de enriquecimiento usando un número suficiente de muestras en alimentos representativos y con exposición a ciertas cepas o bacterias desafiantes para garantizar que el método satisface los criterios del usuario en su propio entorno.

3M ha evaluado el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M con Agua Peptonada Tamponada ISO.

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

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

El Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M contiene 96 pruebas, que se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Componentes del kit para el Análisis de Detección Molecular 3M

Artículo	Identificación	Cantidad	Contenido	Comentarios
Solución de Lisis (LS) 3M™	Solución rosada en tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µL de Solución de Lisis de 3M por tubo	En bastidor y lista para usar
Tubos de reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para <i>E. coli</i> O157 (incluido H7) 3M™	Tubos rosa	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mezcla de detección y amplificación específica liofilizada	Listos para usar
Tapas adicionales	Tapas rosa	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listos para usar
Control de Reactivos 3M™ (RC)	Tubos transparentes con tapa de bisagra	16 (2 bolsas de 8 tubos individuales)	Mezcla de detección y amplificación de control liofilizado de ADN	Listos para usar
Guía de inicio rápido		1		

El Control Negativo, no provisto en el kit, es un medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, BPW ISO. No use agua como Control Negativo.



Seguridad

El usuario debe leer, comprender y proceder con toda la información de seguridad incluida en las instrucciones para el Sistema de Detección Molecular 3M y el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M. Guarde las instrucciones de seguridad para consultas futuras.

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

ATENCIÓN: Indica una situación potencialmente peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar daños materiales.

⚠ ADVERTENCIA

No use el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M para el diagnóstico de afecciones en seres humanos ni animales.

El usuario debe capacitar a su personal en lo que respecta a las técnicas de prueba adecuadas, por ejemplo, Buenas prácticas de laboratorio, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ o ISO 7218⁽⁵⁾.

Para reducir los riesgos asociados con un resultado falso negativo que provoque la liberación de productos contaminados:

- Siga el protocolo y realice las pruebas exactamente como se indica en las instrucciones del producto.
- Use un medio precalentado a $41,5 \pm 1$ °C. No permita que la temperatura del medio baje a menos del rango de temperatura de incubación durante la preparación de la muestra.
- Almacene el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M como se indica en el embalaje y en las instrucciones del Producto.
- Siempre use el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M antes de su fecha de vencimiento.
- Use el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M con muestras de alimentos y muestras ambientales de donde se procesan alimentos validadas internamente o por un tercero.
- Use el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M solo con superficies, desinfectantes, protocolos y cepas de bacterias que hayan sido validadas internamente o por un tercero.
- En el caso de muestras ambientales que contengan solución de caldo neutralizante (NB) con complejo de aril sulfonato, prepare una dilución en una proporción de 1:2 (1 parte de muestra en 1 parte de caldo de enriquecimiento estéril) antes de realizar la prueba. Otra opción es transferir 10 µL de la muestra de solución de caldo neutralizante enriquecida a los tubos de Solución de Lisis 3M. Productos de manejo de muestras 3M™ que incluyen una Solución de Caldo Neutralizante 3M™ con el complejo aril sulfonato: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB y HS119510NB.

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

- Realice las pruebas de patógenos en un laboratorio debidamente equipado, bajo la supervisión de personal capacitado. El medio de enriquecimiento incubado y el equipo o las superficies que hayan entrado en contacto con el medio de enriquecimiento podrían contener patógenos en niveles suficientes para provocar un riesgo para la salud humana.
- Siempre proceda de acuerdo con las prácticas estándar de seguridad del laboratorio. Eso incluye usar la ropa de protección adecuada y protección para los ojos al manipular reactivos y muestras contaminadas.
- Evite el contacto con el contenido del medio de enriquecimiento y de los tubos de reactivos después de la amplificación.
- Deseche las muestras enriquecidas y los desechos contaminados asociados según los estándares locales/regionales/nacionales/industriales actuales.
- No exceda la temperatura recomendada al configurar el calentador.
- No exceda el tiempo de calentamiento recomendado.
- Use un termómetro calibrado adecuado para verificar la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M™ (p. ej., un termómetro de inmersión parcial o un termómetro digital termopar, no un termómetro de inmersión total). El termómetro debe colocarse en la ubicación designada en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M.

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

- Use siempre guantes (para proteger al usuario y evitar que se introduzcan nucleasas).

Para reducir los riesgos relacionados con la exposición a líquidos calientes:

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

ATENCIÓN

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

- Se recomienda usar puntas de pipetas estériles de calidad de biología molecular con barrera para aerosoles (con filtro).
- Use una nueva punta de pipeta para cada transferencia de muestra.
- Use las Buenas Prácticas de Laboratorio para transferir la muestra del enriquecimiento al tubo de lisis. Para evitar la contaminación de la pipeta, el usuario puede elegir agregar un paso de transferencia intermedia. Por ejemplo, el usuario puede transferir cada muestra enriquecida a un tubo estéril.
- Use una estación de trabajo de calidad para biología molecular con una lámpara germicida, siempre que disponga de una.

Para reducir los riesgos relacionados con un resultado falso positivo:

- Nunca abra los tubos después de la amplificación.
- Siempre deseche los tubos contaminados sumergiéndolos en una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) durante 1 hora y lejos del área en que se prepara el ensayo.

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

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

Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones e información del producto. Visite nuestro sitio web en www.3M.com/foodsafety o póngase en contacto con su representante o distribuidor local de 3M para obtener más información.

Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que factores externos tales como los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio pueden afectar los resultados.

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

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

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

Para ayudar a los clientes a evaluar el método de varias matrices, 3M ha desarrollado el kit de Control de Matriz para Detección Molecular 3M™. Cuando sea necesario, utilice el Control de Matriz (MC) para determinar si la matriz tiene la capacidad de impactar en los resultados del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M. Analice varias muestras representativas de la matriz, es decir, las muestras obtenidas de diferente origen, durante cualquier periodo de validación al adoptar el método de 3M o al analizar matrices nuevas o desconocidas, o matrices que hayan sido sometidas a cambios en el proceso o la materia prima.

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

Limitación de garantía/Recurso limitado

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA O EN EL EMBALAJE DE UN PRODUCTO ESPECÍFICO, 3M RENUNCIA A TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESAS Y TÁCITAS INCLUIDA, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIABILIDAD O IDONEIDAD PARA UN USO EN PARTICULAR. Si un producto de 3M Food Safety es defectuoso, 3M o su distribuidor autorizado reemplazará el producto o reembolsará el precio de compra del producto, a su elección. Estos son sus recursos exclusivos. Deberá notificar inmediatamente a 3M en un lapso de sesenta días a partir del descubrimiento de cualquier sospecha de defecto en un producto y devolver dicho producto a 3M. Llame a Atención al Cliente (1-800-328-1671 en los EE. UU.) o a su representante oficial de 3M Food Safety para obtener una Autorización de devolución de productos.

Limitación de responsabilidad de 3M

3M NO SERÁ RESPONSABLE DE NINGUNA PÉRDIDA O DAÑO, YA SEA DIRECTO, INDIRECTO, ESPECIAL, DAÑOS ACCIDENTALES O CONSECUENCIAS, INCLUIDOS ENTRE OTROS, LA PÉRDIDA DE BENEFICIOS. En ningún caso la responsabilidad de 3M conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

Almacenamiento y desecho

Almacene el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M entre 2 °C-8 °C. No lo congele. Durante el almacenamiento, mantenga el kit fuera del alcance de la luz. Después de abrir el kit, verifique que la bolsa de aluminio no esté dañada. Si la bolsa está dañada, no use el producto. Después de abrir el embalaje, los tubos de reactivo no utilizados se deberán guardar siempre en la bolsa resellable junto con el desecante para conservar la estabilidad de los reactivos liofilizados. Almacene las bolsas cerradas a una temperatura entre 2 °C-8 °C durante 60 días como máximo.

No use el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M después de su fecha de vencimiento. La fecha de vencimiento y el número de lote están impresos en la etiqueta externa de la caja. Después de usarlos, el medio de enriquecimiento y los tubos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M podrían contener materiales patógenos. Una vez terminada la prueba, proceda de acuerdo con los estándares actuales de la industria para el desecho de residuos contaminados. Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información y conocer las normativas locales para el desecho de materiales.

Instrucciones de uso

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

El usuario debe completar la capacitación de calificación del operador del Sistema de Detección Molecular 3M según se describe en el documento “Protocolos de Calificación para la Instalación (IQ)/Calificación Operativa (OQ) e Instrucciones para el Sistema de Detección Molecular 3M”⁽⁷⁾.

Descontamine periódicamente las mesas y el equipo de laboratorio (pipetas, herramientas para tapar/destapar, etc.) con una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) o en una solución para eliminación de ADN.

Consulte la Sección “Instrucciones específicas para los métodos validados” para obtener requisitos específicos:

La Tabla 3 para los protocolos de enriquecimiento según el AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

La Tabla 4 para los protocolos de enriquecimiento según el certificado NF Validation 3M 01/18-05/17

Enriquecimiento de la muestra

Las Tablas 2, 3 o 4 presentan una guía para los protocolos de enriquecimiento de alimentos. Es responsabilidad del usuario validar protocolos de muestreo o proporciones de dilución alternativos para garantizar que este método de prueba satisface los criterios del usuario.

Alimentos

1. Caliente previamente el medio de enriquecimiento BPW ISO a 41,5 °C ± 1 °C.
2. Combine asépticamente el medio de enriquecimiento y la muestra según las Tablas 2, 3 o 4. Para todas las muestras con alto contenido de partículas y carne, se recomienda utilizar bolsas con filtro.
3. Homogenice bien todas las matrices, excepto las frutas y las verduras de hoja, mediante una liquadora, un homogeneizador peristáltico o a mano durante 2 ± 0,2 minutos. Incube a 41,5 °C ± 1 °C durante el tiempo apropiado según las Tablas 2, 3 o 4.

Tabla 2. Protocolos generales de enriquecimiento

Matriz ^(a)	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (mL)	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)
Carne de res cruda, incluso carne picada/molida y recortes	325 g	975 BPW ISO (precalentado)	41,5	10-18
Carne cruda, incluso carne de res, cerdo, ave, cordero y búfalo crudo	25 g	225 BPW ISO (precalentado)	41,5	8-18
Verduras de hoja ^(b)	200 g	450 BPW ISO (precalentado)	41,5	18-24
Otros alimentos, incluso fruta ^(b) , vegetales, jugos de frutas/vegetales, hierbas frescas, mariscos crudos, huevos crudos, leche cruda, masa de galletas y carne procesada	25 g	225 BPW ISO (precalentado)	41,5	18-24

Nueces o mezclas de frutos secos con nueces (este protocolo es apropiado para otros frutos secos tales como nueces pecanas, almendras, pistachos, castañas de cajú y castañas)	25 g	225 leche en polvo sin grasa reconstituida	41,5	18-24
--	------	---	------	-------

- (a) Las muestras congeladas se deben equilibrar a 4 °C-8 °C antes de agregarlas al caldo de enriquecimiento.
 (b) Las muestras de frutas y verduras de hoja se deben agitar suavemente a mano durante 5 minutos. No mezcle ni use un homogeneizador peristáltico.

Instrucciones específicas para métodos validados

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

En el programa AOAC Official Method of AnalysisSM, se determinó que el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M era un método eficaz para detectar *E. coli* O157:H7. Las matrices evaluadas en el estudio se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Protocolos de enriquecimiento que utilizan BPW ISO precalentada a 41,5 °C ± 1 °C según AOAC® Official MethodsSM 2017.01

Matriz	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (mL)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Homogeneizada
Carne molida cruda (73 % magra)	325 g	975	10-18	A mano o mediante homogeneizador peristáltico
Espinaca cruda en bolsa ^(a)	200 g	450	18-24	Agitar suavemente a mano durante 5 minutos, no homogeneizar
Coles frescas	25 g	225	18-24	Agitar suavemente a mano durante 5 minutos, no homogeneizar
Arándanos congelados ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	Agitar suavemente a mano durante 5 minutos, no homogeneizar

- (a) Las muestras de frutas y verduras de hoja se deben agitar suavemente a mano durante 5 minutos. No mezcle ni use un homogeneizador peristáltico.
 (b) Las muestras congeladas se deben equilibrar a 4 °C-8 °C antes de agregarlas al caldo de enriquecimiento.

NF Validation por AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Para más información acerca del final de la validez, consulte el certificado de NF VALIDATION disponible en el sitio web mencionado anteriormente.

Método certificado de NF VALIDATION en cumplimiento de la norma ISO 16140-2⁽⁸⁾ comparada con la norma ISO 16654⁽³⁾

Alcance de la validación: carne de res cruda, productos lácteos crudos, frutas y vegetales crudos

Preparación de la muestra: las muestras se deben preparar según las normas EN ISO 16654 y EN ISO 6887⁽⁶⁾

Versión de Software: consulte el certificado

Tabla 4. Protocolos de enriquecimiento que utilizan BPW ISO precalentada a 41,5 °C ± 1 °C según el método certificado NF Validation 3M 01/18-05/17

Protocolo	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (mL)	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)
Productos lácteos crudos, frutas y vegetales crudos	25 g	225	41,5	18-24
Carne de res cruda	25 g	225	41,5	8-24

NOTAS:

- Las muestras de más de 25 g no han sido sometidas a prueba en el estudio de NF VALIDATION.
- Los puntos de interrupción del protocolo recomendados corresponden a después del enriquecimiento o después de la lisis de las muestras. El caldo de enriquecimiento o el lisado de muestra se puede almacenar a 2 °C-8 °C por hasta 72 horas. Después de extraer el caldo de enriquecimiento del almacenamiento, retome la prueba desde el Paso 1 en la sección **Lisis**. Después de extraer el lisado de muestra del almacenamiento, retome la prueba desde el Paso 7 en la sección **Lisis**. El lisado también se puede almacenar a 20 °C.
- Los protocolos de enriquecimiento breve son sensibles a las condiciones de incubación y se debe cumplir con las temperaturas especificadas en el protocolo. Se debe verificar la temperatura en el tanque de agua o la incubadora donde se precalientan los caldos para garantizar que el caldo de enriquecimiento alcance la temperatura necesaria. El tiempo total de preparación de la muestra, incluida la demora entre el final del paso de precalentamiento del medio y el comienzo de la incubación de la muestra de alimentos, no debe superar los 45 minutos. Se recomienda utilizar una incubadora ventilada durante la incubación.

Preparación de la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M™

1. Humedezca un paño o una toalla desechable con una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) y limpie la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M.
2. Enjuague la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M con agua.
3. Utilice una toalla desechable para secar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M.
4. Antes de utilizarla, asegúrese de que la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M esté seca.

Preparación del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M™

Coloque la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M directamente sobre la mesa del laboratorio: No se usa la Bandeja para el Bloque de Frío del Sistema de Detección Molecular 3M. Use el bloque a temperatura ambiente del laboratorio (20 °C-25 °C).

Preparación del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M™

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

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

Preparación del Equipo de Detección Molecular 3M™

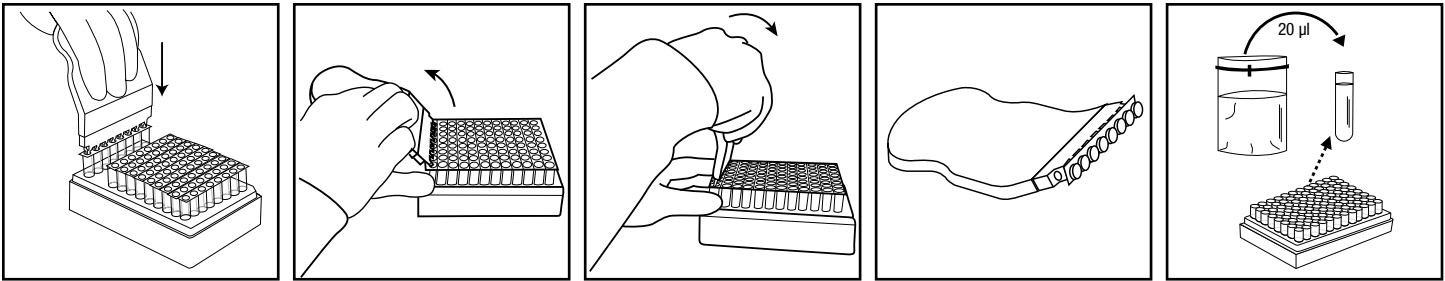
1. Inicie el software de Detección Molecular 3M™ e inicie sesión. Contacte a su representante de 3M Food Safety para verificar que tiene la última versión del software.
2. Encienda el Equipo de Detección Molecular 3M.
3. Cree o edite una corrida con datos para cada muestra. Para obtener detalles, consulte el Manual del Usuario del Sistema de Detección Molecular 3M™.

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

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

Transfiera cada muestra enriquecida a un tubo de Solución de Lisis 3M individual **primero**. Transfiera el NC **al final**.

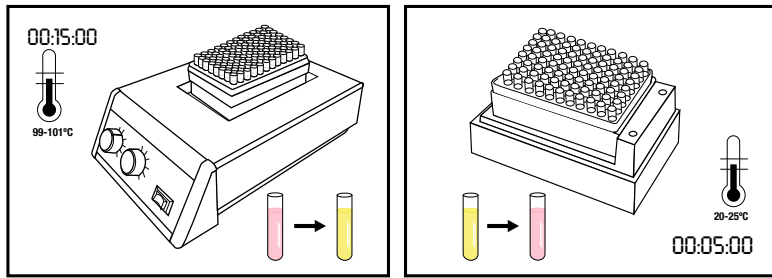
- Utilice la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Lisis 3M™ para destapar una tira de tubos de Solución de Lisis 3M, una tira por vez.
- Deseche la tapa del tubo de Solución de Lisis 3M; si se conservara el lisado para una repetición de prueba, coloque las tapas en un envase limpio para su reutilización luego de la lisis.
 - Para ver cómo procesar el lisado conservado, consulte el Apéndice A.
- Transfiera 20 µl de la muestra a un tubo de Solución de Lisis 3M, a menos que se indique lo contrario en las Tablas 2, 3 y 4 del protocolo.



- Repita el paso 4.3 hasta que cada muestra individual se haya agregado al correspondiente tubo de Solución de Lisis 3M de la tira.
- Repita los pasos 4.1 a 4.6 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.
- Cuando se hayan transferido todas las muestras, transfiera 20 µL del NC (medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, BPW ISO) a un tubo de Solución de Lisis 3M. No use agua como un NC.
- Verifique que la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M sea de 100 °C ± 1 °C.
- Coloque la gradilla descubierta de tubos de Solución de Lisis 3M en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M y caliente durante 15 ± 1 minutos. Durante el calentamiento, la Solución de Lisis 3M cambiará de rosado (frío) a amarillo (caliente).

Las muestras que no se hayan tratado debidamente con calor durante el paso de lisis del ensayo pueden considerarse un posible riesgo biológico y NO deben introducirse en el Equipo de Detección Molecular 3M.
- Retire la gradilla descubierta de tubos Solución de Lisis 3M del bloque de calentamiento y deje que se enfríe en la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M al menos durante 5 minutos y por un máximo de 10 minutos. Cuando se usa el Bloque de Enfriamiento Molecular 3M a temperatura ambiente sin la Bandeja para el Bloque de Frío del Sistema de Detección Molecular 3M, debe colocarse directamente sobre la mesa del laboratorio. Cuando esté fría, la solución de lisis se revertirá a un color rosado.

11. Retire la gradilla de tubos de Solución de Lisis 3M de la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M.



Amplificación

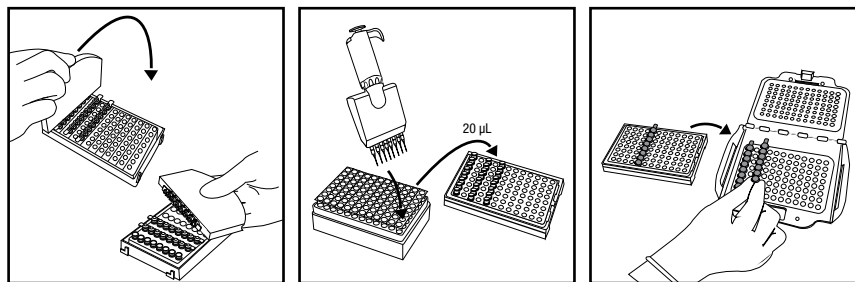
1. Se necesita un Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M por cada muestra y el NC.
 - 1.1 Las tiras de tubos pueden cortarse para obtener la cantidad de tubos deseada. Seleccione la cantidad de Tubos de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M o tiras de 8 tubos, según sea necesario.
 - 1.2 Coloque los Tubos de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M en una gradilla vacía.
 - 1.3 Evite mover las perlas de reactivo en el fondo de los tubos.
2. Seleccione un tubo de Control de Reactivos 3M y colóquelo en la gradilla.
3. Para evitar contaminación cruzada, destape un Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M por vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
4. Transfiera el lisado a un Tubo de Reactivo del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M y a un tubo de Control de Reactivos 3M como se describe a continuación:

Transfiera el lisado de cada muestra a los Tubos de Reactivos de Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M **primero**, seguido por el NC. Hidrate el Tubo de Control de Reactivos 3M **al final**.

5. Use la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Reactivo 3M™ para destapar el Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M, una tira a la vez. Deseche la tapa.
 - 5.1 **Transfiera 20 µL del lisado de muestra de la ½ superior del líquido (evite el precipitado) en el tubo de Solución de Lisis 3M que corresponde al Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M. Aplique en un ángulo que permita evitar que se muevan los gránulos. Mezcle pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces.**
 - 5.2 Repita el paso 5.1 hasta que se haya añadido una muestra individual del lisado a un Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M en la tira.
 - 5.3 Cubra los Tubos de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M con las tapas adicionales provistas y utilice el lado redondeado de la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Reactivo 3M para aplicar presión con un movimiento hacia adelante y hacia atrás para asegurarse de que la tapa quede bien ajustada.
 - 5.4 Repita los pasos 5.1 a 5.3 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.
 - 5.5 Cuando se hayan transferido todos los lisados de la muestra, repita los pasos 5.1 a 5.3 para transferir 20 µL de lisado NC a un Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M.
 - 5.6 **Transfiera 20 µL del lisado NC a un tubo de Control de Reactivos 3M.** Aplique en un ángulo que permita evitar que se muevan los gránulos. Mezcle pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces.



6. Cargue los tubos tapados en una Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M limpia y descontaminada. Luego cierre la tapa.



7. Revise y confirme la corrida configurada en el Software de Detección Molecular 3M.
8. Haga clic en el botón de inicio del software y seleccione el equipo que usará. La tapa del equipo seleccionado se abrirá automáticamente.
9. Coloque la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M en el Equipo de Detección Molecular 3M y cierre la tapa para comenzar con el ensayo. Obtendrá los resultados al cabo de 60 minutos, aunque los positivos pueden detectarse antes.
10. Una vez terminado el ensayo, retire la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M del Equipo de Detección Molecular 3M y deseche los tubos sumergiéndolos en una solución de cloro de uso doméstico del 1% al 5% (v:v en agua) durante 1 hora y lejos del área en que se prepara el ensayo.

ATENCIÓN: Para minimizar el riesgo de falsos positivos a causa de contaminación cruzada, nunca abra tubos de reactivo que contengan ADN amplificado. Esto incluye el Control de Reactivos 3M, el Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M y los Tubos de Control de Matriz 3M. Siempre deseche los tubos de reactivo sellados sumergiéndolos en una solución de lejía de uso doméstico al 1% a 5% (v:v en agua) durante 1 hora y lejos del área en que se prepara el análisis.

Resultados e interpretación

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

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

NOTA: Incluso una muestra negativa no arrojará una lectura de cero, ya que el sistema y los reactivos de amplificación del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M tienen unidades relativas de luz de fondo (RLU).

En el raro caso de que haya una interrupción inusual del suministro eléctrico, el algoritmo lo señalará como “Inspeccionar”. 3M recomienda al usuario repetir el ensayo para aquellas muestras etiquetadas como Inspeccionar. Si el resultado sigue siendo Inspeccionar, continúe con la prueba de confirmación usando su método preferido o según se especifique en las reglamentaciones locales.

En caso de resultados discordantes (presuntamente positivos con el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M no confirmados por alguno de los medios descritos anteriormente y, en particular, la prueba de aglutinación de látex), el laboratorio debe seguir los pasos necesarios para garantizar la validez de los resultados obtenidos.

Confirmación de los resultados según el Método Certificado de NF VALIDATION

En el contexto de NF VALIDATION, todas las muestras identificadas como positivas por el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M deben ser confirmadas mediante una de las siguientes pruebas:

Opción 1: uso de la norma ISO 16654⁽³⁾ a partir del enriquecimiento de agua peptonada tamponada⁽³⁾.

Opción 2: mediante la implementación de un método de confirmación compuesto por lo siguiente: Utilice la técnica de rayado con 50 µL del enriquecimiento de agua peptonada tamponada⁽³⁾ en una placa agar MacConkey sorbitol suplementado con cefixima y telurito de potasio (CT-SMAC)⁽³⁾. Incube durante 24 ± 3 horas a 37 °C. Realice un rayado de las colonias típicas en agar de nutrientes y realice la prueba de aglutinación de látex directamente en las colonias aisladas. Si no se confirman los resultados del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M, realice un paso de separación inmunomagnética y, luego, realice un rayado con 50 µL en CT-SMAC.

Opción 3: mediante el uso de sondas de ácido nucleico tal como se describen en la norma EN ISO 7218⁽⁵⁾, realizado sobre colonias aisladas (purificadas o no) de CT-SMAC (consulte las Opciones 1 o 2). Las sondas de ácido nucleico deben ser diferentes de las utilizadas en el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M.

Opción 4: mediante el uso de cualquier otro método certificado NF VALIDATION, cuyo principio debe ser diferente al Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M. Se debe utilizar el protocolo completo descrito para este segundo método validado. Todos los pasos previos al comienzo de la confirmación deben ser comunes para ambos métodos.

En caso de resultados discordantes (presuntamente positivos con el método alternativo, no confirmados por alguno de los medios descritos anteriormente), el laboratorio debe seguir los pasos necesarios para garantizar la validez del resultado obtenido.

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

Apéndice A. Interrupción por protocolo: Almacenamiento y nuevo análisis de las muestras

1. Para almacenar un lisado tratado con calor, vuelva a tapar el tubo de lisis con una tapa limpia (consulte Lisis, sección 4.5).
2. Para almacenar una muestra enriquecida, incube durante 18 horas como mínimo antes de almacenar.
3. Almacene entre 4 °C y 8 °C por hasta 72 horas.
4. Prepare una muestra almacenada para amplificación invirtiéndola 2 a 3 veces para mezclar.
5. Destape los tubos.
6. Coloque los tubos de lisado mezclados en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M y caliéntelos a 100 °C ± 1 °C durante 5 ± 1 minutos.
7. Retire la gradilla de tubos Solución de Lisis 3M del bloque de calentamiento y deje que se enfríe en el Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M al menos durante 5 minutos y por un máximo de 10 minutos.
8. Siga el protocolo en la sección **Amplificación** que se detalla arriba.

Referencias:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Explicación de los símbolos

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Productinstructies

Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)

Productbeschrijving en beoogd gebruik

De 3M™ Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) wordt samen met het 3M™ Moleculair Detectiesysteem gebruikt voor een snelle en specifieke detectie van *E. coli* O157 (inclusief H7) in verrijkte voedsel- en voedingsmonsters.

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

De 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) is bestemd voor gebruik in een laboratoriumomgeving door professionals die zijn geschoold in laboratoriumtechnieken. 3M heeft het gebruik van dit product niet gedocumenteerd in andere sectoren dan de voedings- of dranksector. 3M heeft dit product bijvoorbeeld niet gedocumenteerd voor het testen van omgevings-, farmaceutische, cosmetische, klinische of veterinaire monsters. De 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) is niet geëvalueerd voor alle mogelijke voedingsmiddelen, voedingsprocessen, testprotocollen of met alle mogelijke bacteriestammen.

Zoals bij alle testmethoden, kunnen de bron, de formulering en de kwaliteit van het verrijkmingsmedium de resultaten beïnvloeden. Factoren als bemonsteringsmethoden, testprotocollen, monstervoorbereiding, hantering en laboratoriumtechniek kunnen tevens de resultaten beïnvloeden. 3M beveelt evaluatie van de methode aan, met inbegrip van het verrijkmingsmedium, in de omgeving van de gebruiker aan de hand van een voldoende aantal monsters met specifieke voedingsmiddelen en microbiële uitdagingen om ervoor te zorgen dat de methode aan de criteria van de gebruiker voldoet.

3M heeft de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) geëvalueerd met ISO gebufferd peptonwater.

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

3M Food Safety is ISO 9001-gecertificeerd voor het ontwerp en de productie (ISO staat voor Internationale Organisatie voor Standaardisatie).

3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-testset bevat 96 tests, die beschreven staan in Tabel 1.

Tabel 1. Onderdelen 3M Moleculaire Detectieanalyse-testset

Artikel	Identificatie	Hoeveelheid	Inhoud	Opmerkingen
3M™ Lyse-oplossing (LS)	Roze oplossing in doorzichtige buisjes	96 (12 stroken van 8 buisjes)	580 µl 3M Lyse-oplossing per buisje	In rek en klaar voor gebruik
3M™ Moleculaire Detectieanalyse 2 - <i>E. coli</i> O157 (inclusief H7)-reagensbuisjes	Roze buisjes	96 (12 stroken van 8 buisjes)	Gevriesdroogde specifieke amplificatie- en detectiemix	Klaar voor gebruik
Extra doppen	Roze doppen	96 (12 stroken van 8 doppen)		Klaar voor gebruik
3M™ Reagenscontrole (RC)	Doorzichtige buisjes met kliksluiting	16 (2 zakjes met 8 individuele buisjes)	Gevriesdroogd controle-DNA, amplificatie- en detectiemix	Klaar voor gebruik
Snelstartgids		1		

De negatieve controle, die niet in de set is meegeleverd, is een steriel verrijkmingsmedium, zoals BPW ISO. Gebruik geen water als negatieve controle.

Veiligheid

De gebruiker moet alle veiligheidsinformatie in de instructies van het 3M Moleculair Detectiesysteem en de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) lezen, begrijpen en in acht nemen. Bewaar de veiligheidsinstructies om deze later te kunnen raadplegen.

⚠ WAARSCHUWING: Geeft een gevaarlijke situatie aan die, indien deze niet wordt vermeden, de dood, ernstig letsel en/of materiële schade tot gevolg zou kunnen hebben.

OPMERKING: Geeft een mogelijk gevaarlijke situatie aan die, indien deze niet wordt vermeden, materiële schade tot gevolg zou kunnen hebben.

⚠ WAARSCHUWING

Gebruik de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) niet voor de diagnose van aandoeningen bij mensen of dieren.

De gebruiker moet zijn personeel scholen in de huidige en juiste testtechnieken, zoals Good Laboratory Practices, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾, of ISO 7218⁽⁵⁾.

Op de volgende wijze kunt u de risico's beperken van een vals negatief resultaat dat tot vrijgave van een besmet product leidt:

- Volg het protocol en voer de tests exact uit zoals aangegeven in de productinstructies.
- Gebruik een medium dat is voorverwarmd tot $41,5 \pm 1$ °C. Zorg ervoor dat de temperatuur van het medium tijdens de monstervoorbereiding niet onder het bereik van de incubatietemperatuur daalt.
- Bewaar de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) zoals wordt aangegeven op de verpakking en in de productinstructies.
- Gebruik de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) nooit na de vervaldatum.
- Gebruik de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) met voedsel, voedings- en omgevingsmonsters van voedselverwerkingsprocessen die intern of door een derde partij zijn gevalideerd.
- Gebruik de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) alleen met oppervlakken, reinigingsmiddelen, protocollen en bacteriestammen die intern of door een derde partij zijn gevalideerd.
- Een omgevingsmonster dat een neutraliserende bufferoplossing bevat met een arylsulfonaatcomplex, verdunt u 1:2 voorafgaand aan het testen (1 deel monster op 1 deel steriele verrijkingbouillon). Ook kan 10 µl van de neutraliserende bufferverrijking naar de buisjes met 3M Lyse-oplossing worden overgebracht. 3M™ monsterverwerkende producten, waaronder 3M™ neutraliserende buffer met arylsulfonaatcomplex: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB en HS119510NB.

Op de volgende wijze kunt u de risico's van blootstelling aan biologische en chemische gevaren beperken:

- Voer de pathogentests uit in een goed uitgerust laboratorium onder het toezicht van opgeleid personeel. Geïncubeerde verrijkingsmedia en -apparatuur of oppervlakken die met geïncubeerde verrijkingsmedia in contact zijn gekomen, bevatten mogelijk voldoende pathogenen om een gevaar voor de menselijke gezondheid te vormen.
- Volg bij de hantering van reagentia en besmette monsters altijd de standaard veiligheidsvoorschriften voor laboratoria op, met inbegrip van het dragen van toepasselijke beschermende kleding en oogbescherming.
- Vermijd contact met de inhoud van de verrijkingsmedia en reagensbuisjes na amplificatie.
- Voer verrijkte monsters met bijbehorend besmet afval af conform de geldende plaatselijke/regionale/nationale industriënormen.
- Overschrijd de aanbevolen temperatuurinstelling op de verwarmers niet.
- Overschrijd de aanbevolen verwarmingstijd niet.
- Gebruik een geschikte, gekalibreerde thermometer om de temperatuur van het 3M™ Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk te controleren (zoals een gedeeltelijk ondergedompelde thermometer of digitale thermokoppelthermometer, geen volledig ondergedompelde thermometer). De thermometer moet op de aangewezen locatie in het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk worden geplaatst.

Op de volgende wijze kunt u tijdens de voorbereiding van de test de risico's van kruisbesmetting beperken:

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

Op de volgende wijze kunt u de risico's van blootstelling aan hete vloeistoffen beperken:

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



OPMERKING

Op de volgende wijze kunt u tijdens de voorbereiding van de test de risico's van kruisbesmetting beperken:

- Het gebruik van steriele pipettips geschikt voor moleculaire biologie met spuitbusbarrière (gefilterd) wordt aanbevolen.
- Gebruik een nieuwe pipettip bij elke monsteroverdracht.
- Maak gebruik van Good Laboratory Practices bij de monsteroverdracht van de verrijking naar het lysebuisje. Ter voorkoming van pipetbesmetting kan de gebruiker ervoor kiezen een extra overdrachtstap toe te voegen. De gebruiker kan bijvoorbeeld elk verrijkt monster naar een steriel buisje overbrengen.
- Gebruik waar mogelijk een moleculair biologiewerkstation met een kiemdodende lamp.

Op de volgende wijze kunt u het risico op vals positieve resultaten beperken:

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

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende informatie en lokale wet- en regelgeving inzake afvalverwerking.

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

Verantwoordelijkheid van de gebruiker

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

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

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

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

Zoals bij elke testmethode vormen de verkregen resultaten van het gebruik van een 3M Food Safety-product geen garantie voor de kwaliteit van de geteste matrices of processen.

Om klanten te helpen bij de evaluatie van de methode voor verschillende voedselmatrices heeft 3M de 3M™ Moleculaire Detectie - Matrix controleset ontwikkeld. Gebruik indien nodig de Matrix controle (MC) om te bepalen of de matrix het vermogen heeft om de resultaten van de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) te beïnvloeden. Test bij het aannemen van de 3M-methode of bij het testen van nieuwe of onbekende matrices of matrices die grondstof- of procesveranderingen hebben ondergaan, meerdere monsters die representatief zijn voor de matrix, zoals monsters met een verschillende oorsprong, tijdens een willekeurige validatieperiode.

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

Beperkte garantie/beperkt verhaal

BEHALVE WAAR UITDRUKKELIJK VERMELD IN EEN SECTIE MET BETREKKING TOT DE BEPERKTE GARANTIE VAN EEN AFZONDERLIJKE PRODUCTVERPAKKING, WIJST 3M ALLE UITDRUKKELIJKE EN IMPLICIETE GARANTIES AF, MET INBEGRIIP VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT, ELKE GARANTIE MET BETREKKING TOT DE VERHANDELBAARHEID EN DE GESCHIKTHEID VOOR EEN BEPAALD DOEL. Als een 3M Food Safety-product gebrekkig is, zal 3M of zijn gevolmachtigde distributeur naar eigen keuze het product vervangen of de aankoopprijs van het product terugbetalen. Dit is het enige rechtsmiddel waarover u beschikt. Indien u vermoedt dat een product gebrekkig is, moet u 3M daarvan binnen 60 dagen na de vaststelling op de hoogte brengen en het product naar 3M terugsturen. Bel onze klantenservice (1-800-328-1671 in de VS) of uw erkende vertegenwoordiger voor 3M Food Safety, die u autorisatie voor het retourneren van de goederen zal geven.

Beperking van 3M aansprakelijkheid

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

Opslag en afvalverwerking

Bewaar de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) tussen 2-8 °C. Niet invriezen. Bewaar de set tijdens opslag uit het licht. Controleer na opening van de set of het foliezakje niet beschadigd is. Gebruik het product niet als het zakje beschadigd is. Na opening moeten de ongebruikte reagensbuisjes altijd worden bewaard in de hersluitbare zak met droogmiddel om de stabiliteit van de gevriesdroogde reagentia te behouden. Bewaar opnieuw verzegelde zakjes tussen 2-8 °C en niet langer dan 60 dagen.

Gebruik de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) niet na de vervaldatum. De vervaldatum en het batchnummer zijn terug te vinden op het etiket aan de buitenzijde van de doos. Na gebruik bevatten het verrijkmingsmedium en de buisjes van de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) mogelijk pathogeen materiaal. Zodra de tests zijn afgerond, dient u de van kracht zijnde industriestandaarden betreffende de afvoer van besmet afval op te volgen. Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende informatie en lokale wet- en regelgeving inzake afvalverwerking.

Gebruiksaanwijzingen

Volg alle instructies zorgvuldig op. Wanneer dit niet gebeurt, kan dit onnauwkeurige resultaten tot gevolg hebben.

De gebruiker dient de kwalificatietraining voor de bediener van het 3M Moleculair Detectiesysteem te voltooien, zoals beschreven in het document 'Installatiekwalificatie (IQ) / operatiekwalificatie (OQ) protocollen en instructies voor het 3M Moleculair Detectiesysteem⁽⁷⁾.

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

Raadpleeg voor de gedetailleerde eisen het gedeelte 'Specifieke instructies voor gevalideerde methoden':

Tabel 3 voor verrijgingsprotocollen conform AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

Tabel 4 voor verrijgingsprotocollen conform het NF Validation-certificaat 3M 01/18-05/17

Monsterverrijking

Tabel 2, 3 of 4 biedt advies voor verrijgingsprotocollen voor voedsel. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om alternatieve bemonsteringsprotocollen of verdunningsverhoudingen te valideren om ervoor te zorgen dat deze testmethode aan de criteria van de gebruiker voldoet.

Voedsel

1. Verwarm het BPW ISO verrijkmingsmedium voor tot $41,5 \pm 1$ °C.
2. Voeg het monster op steriele wijze aan het verrijkmingsmedium toe en neem monsters volgens de aanwijzingen in tabel 2, 3 of 4. Voor alle vlees- en hoge-partikelmonsters is het gebruik van filterzakken aanbevolen.
3. Homogeniseer alle matrices, met uitsluiting van bladgroenten en fruit, gedurende $2 \pm 0,2$ minuten zorgvuldig met een blender of Stomacher, of mix het gedurende dezelfde tijd met de hand. Incubeer op $41,5 \pm 1$ °C gedurende de betreffende tijd zoals aangegeven in tabel 2, 3 of 4.

Tabel 2. Algemene verrijgingsprotocollen

Monstermatrix ^(a)	Monstergrootte	Volume verrijkmingsbouillon (ml)	Verrijkingstemperatuur (± 1 °C)	Verrijkingstijd (uur)
Rauw rundvlees, met inbegrip van gemalen/gehakt en getrimd vlees	325 g	975 BPW ISO (voorverwarmd)	41,5	10-18
Rauw vlees, waaronder rauw rund- en varkensvlees, gevogelte en lams- en bizonvlees	25 g	225 BPW ISO (voorverwarmd)	41,5	8-18
Bladgroente ^(b)	200 g	450 BPW ISO (voorverwarmd)	41,5	18-24
Ander voedsel, waaronder fruit ^(b) , groente, fruit/groentesap, verse kruiden, rauwe vis/schaal- of schelpdieren, rauwe melk, koekjesdeeg en bewerkt vlees	25 g	225 BPW ISO (voorverwarmd)	41,5	18-24

Walnoten of gemengde noten die walnoten bevatten (dit protocol is ook geschikt voor andere noten, met inbegrip van pecannoten, amandelen, pistachenoten, cashewnoten en kastanjes)	25 g	225 gereconstitueerd mager melkpoeder	41,5	18-24
--	------	---------------------------------------	------	-------

- (a) Bevroren monsters moeten op een temperatuur van 4-8 °C zijn gebracht voordat deze aan de verrijkingbouillon kunnen worden toegevoegd.
- (b) Bladgroenten- en fruitmonsters moeten gedurende 5 minuten voorzichtig met de hand worden geroerd. Gebruik geen blender of Stomacher.

Specifieke instructies voor gevalideerde methoden

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

In het AOAC Official Method of AnalysisSM-programma werd bevonden dat de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) een effectieve methode is voor de detectie van *E. coli* O157:H7. De in de studie geteste matrices worden getoond in Tabel 3.

Tabel 3. Verrijkingprotocollen die gebruikmaken van BPW ISO op 41,5 ± 1 °C conform AOAC® Official MethodsSM 2017.01

Monstermatrix	Monstergrootte	Volume verrijkingbouillon (ml)	Verrijkingstijd (uur)	Gehomogeniseerd
Rauw rundergehakt (73% mager)	325 g	975	10-18	Handmatig of met gebruik van een Stomacher
Rauw verpakte spinazie ^(a)	200 g	450	18-24	Vorzichtig gedurende 5 minuten met de hand geroerd, niet homogeniseren
Verse spruiten	25 g	225	18-24	Vorzichtig gedurende 5 minuten met de hand geroerd, niet homogeniseren
Bevroren bosbessen ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	Vorzichtig gedurende 5 minuten met de hand geroerd, niet homogeniseren

- (a) Bladgroenten- en fruitmonsters moeten gedurende 5 minuten voorzichtig met de hand worden geroerd. Gebruik geen blender of Stomacher.
- (b) Bevroren monsters moeten op een temperatuur van 4-8 °C zijn gebracht voordat deze aan de verrijkingbouillon kunnen worden toegevoegd.

NF Validation door AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Voor meer informatie betreffende het einde van de geldigheid, kunt u het NF VALIDATION-certificaat op de hierboven vermelde website raadplegen.

Met NF VALIDATION gecertificeerde methode conform ISO 16140-2⁽⁸⁾ in vergelijking met ISO 16654⁽³⁾

Toepassingsgebied van de validatie: Rauw rundvlees, rauwe melkproducten, rauw(e) fruit en groenten

Vorbereiding van het monster: Monsters moeten worden voorbereid conform EN ISO 16654 en EN ISO 6887⁽⁶⁾

Softwareversie: Zie certificaat

Tabel 4. Verrijgingsprotocollen die gebruikmaken van voorverwarmde BPW ISO op $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ conform de met NF VALIDATION gecertificeerde methode 3M 01/18-05/17

Protocol	Monstergrootte	Volume verrijgingsbouillon (ml)	Verrijkingstemperatuur ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Verrijkingstijd (uur)
Rauwe melkproducten, rauw(e) fruit en groenten	25 g	225	41,5	18-24
Rauw rundvlees	25 g	225	41,5	8-24

OPMERKINGEN:

- Monsters groter dan 25 g zijn niet getest in de NF VALIDATION-studie.
- De aanbevolen onderbrekingspunten in het protocol vallen na de verrijking of de monsterlyse. Verrijgingsbouillon of het monsterlysaat kunnen tot 72 uur tussen 2 en 8 °C worden bewaard. Nadat de verrijgingsbouillon uit de opslag is gehaald, kan het testen verdergaan vanaf stap 1 in het hoofdstuk **Lyse**. Nadat het monsterlysaat uit de opslag is gehaald, kan het testen verdergaan vanaf stap 7 in het hoofdstuk **Lyse**. Het lysaat kan ook op 20 °C worden bewaard.
- Omdat korte verrijgingsprotocollen gevoelig zijn voor incubatieomstandigheden, moeten de in het protocol aangegeven temperaturen worden aangehouden. De temperatuur van het waterbad of de incubator waarin de bouillons worden voorverwarmd, moet worden geverifieerd om ervoor te zorgen dat de verrijgingsbouillon de juiste temperatuur bereikt. De totale monsterbereidingstijd, met inbegrip van de vertraging tussen het einde van de voorverwarmingsstap van het medium en het begin van de incubatie van het voedselmonster, mag maximaal 45 minuten zijn. Het gebruik van een geventileerde incubator tijdens incubatie wordt aanbevolen.

Vorbereiding van de 3M™ Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray

1. Maak een doek of wegwerpdoekje vochtig met een bleekmiddeloplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water) en reinig de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray.
2. Spoel de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray met water.
3. Veeg de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray met een wegwerpdoekje droog.
4. Zorg ervoor dat de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray droog is voor gebruik.

Vorbereiding van het 3M™ Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk

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

Vorbereiding van het 3M™ Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk

Plaats het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk in een droge dubbelblokverhitter. Schakel de droge blokverhitter in en stel de temperatuur zo in dat het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk $100 \pm 1^\circ\text{C}$ kan bereiken en aanhouden.

OPMERKING: Afhankelijk van de verhitter laat u het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk ongeveer 30 minuten op temperatuur komen. Gebruik een geschikte, gekalibreerde, op de aangewezen locatie geplaatste thermometer (zoals een gedeeltelijk ondergedompelde thermometer of digitale thermokoppelthermometer, geen volledig ondergedompelde thermometer) om te controleren of het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk zich op $100 \pm 1^\circ\text{C}$ bevindt.

Vorbereiding van het 3M™ Moleculair Detectieinstrument

1. Start de 3M™ Moleculair Detectiesoftware en meld u aan. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor 3M Food Safety om ervoor te zorgen dat u de nieuwste versie van de software hebt.
2. Zet het 3M Moleculaire Detectieinstrument aan.
3. Maak of bewerk een run met de gegevens van elk monster. Raadpleeg de handleiding van het 3M™ Moleculair Detectiesysteem voor meer informatie.

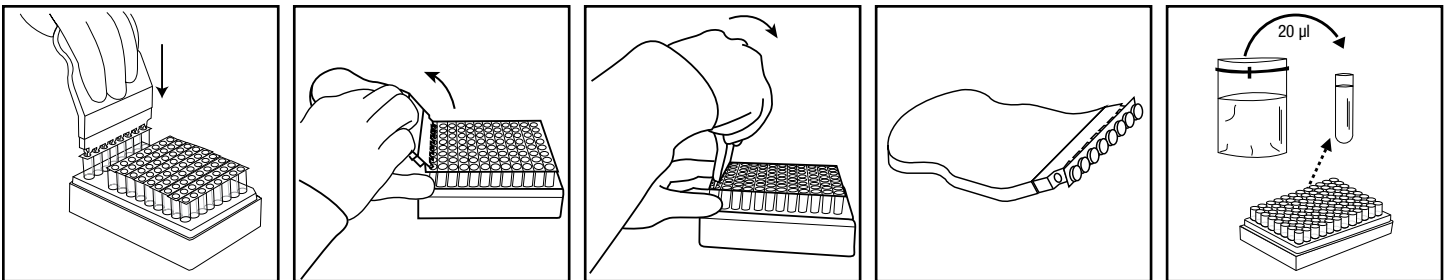
OPMERKING: Het 3M Moleculaire Detectieinstrument moet een temperatuur van 60 °C bereiken en aanhouden voordat u de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray met reageerbuisjes invoert. Deze verwarmingsstap duurt ongeveer 20 minuten en wordt met een ORANJE lampje op de statusbalk van het instrument aangeduid. Wanneer het instrument klaar is voor een run, wordt de statusbalk GROEN.

Lyse

1. Laat de buisjes met 3M Lyse-oplossing opwarmen door het rek gedurende 16-18 uur op kamertemperatuur (20-25 °C) te plaatsen. U kunt de buisjes met 3M Lyse-oplossing eveneens op kamertemperatuur brengen door de buisjes ten minste 2 uur lang op de laboratoriumtafel te plaatsen, de buisjes 1 uur lang op een temperatuur van 37 ± 1 °C in een incubator te incuberen of ze 30 seconden lang op een temperatuur van 100 °C in een droge dubbelblokverhitter te plaatsen.
2. Keer de buisjes met dop om om ze te mengen. Ga binnen 4 uur verder met de volgende stap.
3. Haal de verrijkbingsbouillon uit de incubator.
4. Er is een buisje met 3M Lyse-oplossing vereist voor elk monster, evenals het negatieve controle-monster (NC; steriel verrijkmingsmedium).
 - 4.1 Stroken met buisjes met 3M Lyse-oplossing kunnen worden afgesneden tot het gewenste aantal buisjes met 3M Lyse-oplossing. Selecteer het benodigde aantal individuele buisjes met 3M Lyse-oplossing of stroken met 8 buisjes. Plaats de buisjes met 3M Lyse-oplossing in een leeg rek.
 - 4.2 Haal de stroken van de buisjes met 3M Lyse-oplossing één voor één uit de verpakking en gebruik een nieuwe pipettip voor elke overdrachtsstap om zo kruisbesmetting te voorkomen.
 - 4.3 Breng het verrijkte monster over naar de buisjes met 3M Lyse-oplossing zoals hieronder beschreven:

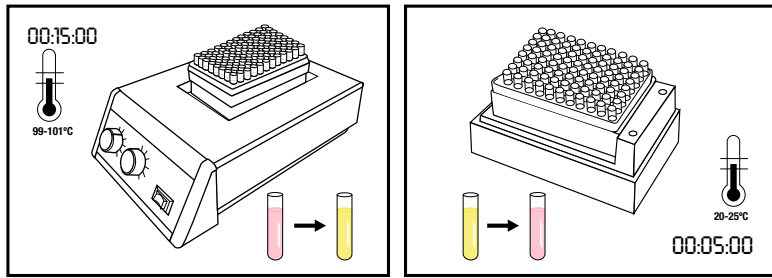
Breng als **eerste** het verrijkt monster over naar individueel buisje met 3M Lyse-oplossing. Breng de NC als **laatste** over.

- 4.4 Gebruik de lyse van het 3M™ Moleculaire Detectie Cap/Decap gereedschap - Lyse om één voor één een strook buisjes met 3M Lyse-oplossing open te maken.
- 4.5 Gooi de dop van het buisje met 3M Lyse-oplossing weg – als er lysaat voor een hertest wordt bewaard, dienen de doppen in een schone bak te worden geplaatst om deze na de lyse opnieuw aan te brengen.
 - 4.5.1 Zie Appendix A voor de verwerking van bewaard lysaat.
- 4.6 Breng 20 µl monster over in een buisje met 3M Lyse-oplossing, tenzij in de protocoltabellen 2, 3 en 4 anders wordt aangegeven.



5. Herhaal stap 4.3 totdat elk individueel monster is toegevoegd aan het bijhorende buisje met 3M Lyse-oplossing in de strook.
6. Herhaal, indien nodig, stappen 4.1 tot 4.6 voor alle monsters die worden getest.
7. Wanneer alle monsters overgebracht zijn, brengt u 20 µl NC (steriel verrijkmingsmedium, zoals BPW ISO) over naar een buisje met 3M Lyse-oplossing. Gebruik geen water als NC.
8. Controleer of de temperatuur van het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk zich op 100 ± 1 °C bevindt.
9. Plaats het onbedekte rek met buisjes met 3M Lyse-oplossing in het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk en verwarm gedurende 15 ± 1 minuten. Tijdens de verwarming verandert de 3M Lyse-oplossing van roze (koel) naar geel (heet).
Monsters die tijdens de lyseanalysestap niet de juiste warmtebehandeling hebben ondergaan, kunnen als een potentieel biologisch gevaar worden beschouwd en mogen NIET in het 3M Moleculaire Detectieinstrument worden geplaatst.
10. Haal het onbedekte rek met buisjes met 3M Lyse-oplossing uit het verwarmingsblok en laat het minimaal 5 minuten en maximaal 10 minuten afkoelen in het 3M Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk. Het 3M Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk wordt zonder de 3M Moleculaire Detectie - Lade voor koelblok op omgevingstemperatuur gebruikt en moet rechtstreeks op de laboratoriumtafel geplaatst zijn. Zodra de lyse-oplossing koel is, krijgt deze een roze kleur.

11. Haal het rek met buisjes met 3M Lyse-oplossing uit het 3M Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk.

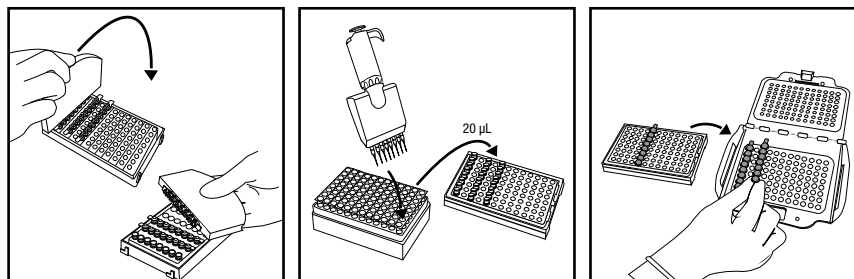


Amplificatie

1. Er is één 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisje vereist voor ieder monster en de NC.
 - 1.1 Buisstrookjes kunnen tot op het gewenste aantal buisjes worden afgesneden. Selecteer het aantal vereiste individuele 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisjes of stroken met 8 buisjes.
 - 1.2 Plaats de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisjes in een leeg rek.
 - 1.3 Zorg ervoor dat het reagens op de bodem van de buisjes niet wordt verstoord.
2. Selecteer één buisje voor 3M Reagenscontrole en plaats dit in het rek.
3. Open de stroken van de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisjes één voor één en gebruik een nieuwe pipettip voor elke overdrachtsstap om zo kruisbesmetting te voorkomen.
4. Breng alle lysaten over naar een 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisje en een buisje voor 3M Reagenscontrole zoals hieronder beschreven:

Breng als **eerste** het monsterlysaat over naar individueel 3M Moleculair Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisjes, gevolgd door de NC. Hydrateer het buisje voor 3M Reagenscontrole als **laatste**.

5. Gebruik het 3M™ Moleculaire Detectie Cap/Decap gereedschap - Reagens om de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisjes één voor één te openen. Gooi de dop weg.
 - 5.1 **Breng 20 µl van het monsterlysaat uit de bovenste laag van de vloeistof (voorkom bezinksel) in het buisje met 3M Lyse-oplossing over naar het bijbehorende 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisje. Laat het mengsel in een hoek uitlopen om de pellets niet te verstoren. Meng het mengsel door voorzichtig 5 keer naar boven en naar onder te pipetteren.**
 - 5.2 Herhaal stap 5.1 totdat elk afzonderlijk monsterlysaat aan het bijbehorende 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisje in de strook is toegevoegd.
 - 5.3 Bedek de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisjes met de bijgeleverde extra doppen en gebruik de afgeronde zijde van het 3M Moleculaire Detectie Cap/Decap gereedschap - Reagens om in een voor- en achterwaartse beweging druk uit te oefenen om ervoor te zorgen dat de dop goed vastzit.
 - 5.4 Herhaal stappen 5.1 tot 5.3, indien nodig, voor alle monsters die moeten worden getest.
 - 5.5 Zodra alle monsterlysaten zijn overgebracht, herhaalt u stappen 5.1 tot 5.3 om 20 µl NC-lysaat over te brengen naar een 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisje.
 - 5.6 **Breng 20 µl NC-lysaat over naar een buisje voor 3M Reagenscontrole.** Laat het mengsel in een hoek uitlopen om de pellets niet te verstoren. Meng het mengsel door voorzichtig 5 keer naar boven en naar onder te pipetteren.
6. Plaats de buisjes met dop in een schone en ontsmette 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray. Vervolgens sluit en vergrendelt u het deksel.



7. Controleer en bevestig de geconfigureerde run en start de 3M Moleculaire Detectiesoftware.

8. Klik op de startknop van de software en selecteer het te gebruiken instrument. Het deksel van het geselecteerde instrument wordt automatisch geopend.
9. Plaats de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray in het 3M Moleculaire Detectieinstrument en sluit het deksel om de analyse te beginnen. De resultaten zijn binnen 60 minuten beschikbaar, maar positieve resultaten kunnen sneller worden gedetecteerd.
10. Nadat de test is afgerond, haalt u de 3M Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray uit het 3M Moleculaire Detectieinstrument en verwijdert u de buisjes door ze eerst gedurende 1 uur in een bleekmiddeloplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water) te dompelen, uit de buurt van de testbereidingsruimte.

OPMERKING: Om het risico op vals positieve resultaten door kruisbesmetting te beperken, mag u nooit reagensbuisjes met geamplificeerd DNA openen. Dit geldt ook voor de 3M Reagenscontrole, 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-reagensbuisjes en buisjes voor 3M Matrixcontrole. Verwijder verzegelde reagensbuisjes door ze gedurende 1 uur in een bleekmiddeloplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water) te dompelen, uit de buurt van de testbereidingsruimte.

Resultaten en interpretatie

Een algoritme interpreteert de lichtuitvoercurve die het resultaat is van de nucleïnezuuramplificatie. De software analyseert de resultaten automatisch en deze worden op basis van het resultaat met een kleurencode aangegeven. Een positief of negatief resultaat wordt bepaald door de analyse van een aantal unieke curveparameters. Vermoedelijk positieve resultaten worden onmiddellijk gerapporteerd, terwijl de negatieve- en inspectieresultaten pas na de afronding van de analyse worden weergegeven.

Vermoedelijk positieve monsters moeten worden bevestigd aan de hand van de standaard werkmethode van het laboratorium of door de gepaste methode voor bevestiging te volgen^(1,2,3), te beginnen met de overdracht van de primaire BPW ISO-verrijking naar secundaire verrijkingsbouillons, gevolgd door een lagenkweek en verificatie van isolaten met gebruik van toepasselijke biochemische en serologische methoden.

OPMERKING: Zelfs een negatief monster heeft geen nulresultaat tot gevolg, want het systeem en de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7)-amplificatiereagentia geven een achtergrond-relatief resultaat met betrekking tot Relative Light Units (RLU).

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

In geval van tegenstrijdige resultaten (vermoedelijk positieve resultaten met de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7), die niet zijn geverifieerd met een van de hierboven beschreven methoden en in het bijzonder voor de latexagglutinatietest), moet het laboratorium de nodige stappen nemen om de validiteit van de verkregen resultaten te garanderen.

Verificatie van resultaten conform de met NF VALIDATION gecertificeerde methode

In het kader van de NF VALIDATION moeten alle monsters die door de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) als positief worden aangemerkt, met een van de onderstaande tests worden bevestigd:

Optie 1: Maak gebruik van de ISO-norm 16654⁽³⁾ en begin met de gebufferde peptonwaterverrijking⁽³⁾.

Optie 2: Implementeer een bevestigingsmethode die bestaat uit de volgende stappen: Verdeel 50 µl gebufferde peptonwaterverrijking⁽³⁾ over een Cefixime Potassium Tellurite Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾-agarplaat. Incubeer gedurende 24 ± 3 uur op 37 °C. Verdeel de karakteristieke kolonies over de voedingsagar en voer een agglutinatietest rechtstreeks op geïsoleerde kolonies uit. Als de resultaten van de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) niet worden bevestigd, voert u een immunomagnetische scheidingstap uit en verdeelt u 50 µl over CT-SMAC.

Optie 3: Maak gebruik van nucleïnezuursondes zoals beschreven in de EN ISO-norm 7218⁽⁵⁾, uitgevoerd op geïsoleerde kolonies (gezuiverd of niet) vanaf CT-SMAC (zie optie 1 of 2). De nucleïnezuursondes moeten andere zijn dan de sondes die in de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7) worden gebruikt.

Optie 4: Maak gebruik van een andere met NF VALIDATION gecertificeerde methode, waarvan het principe moet verschillen van de 3M Moleculaire Detectieanalyse 2 - *E. coli* O157 (inclusief H7). Het hele protocol van deze tweede gevalideerde methode moet nauwkeurig worden gevolgd. Alle stappen voorafgaand aan de bevestiging moeten voor beide procedures hetzelfde zijn.

In geval van tegenstrijdige resultaten (vermoedelijk positief met de alternatieve methode, niet geverifieerd met een van de hierboven beschreven methoden), moet het laboratorium de noodzakelijke stappen nemen om de validiteit van het verkregen resultaat te garanderen.

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



Appendix A. Protocolonderbreking: opslag en het hertesten van monsters

1. Om een warmtebehandeld lysaat te bewaren, sluit u het lysebuisje opnieuw af met een schone dop (zie hoofdstuk 4.5, Lyse).
2. Incubeer een verrijkt monster gedurende minimaal 18 uur voorafgaand aan de opslag.
3. Sla gedurende maximaal 72 uur op bij een temperatuur van 4 tot 8 °C.
4. Bereid een opgeslagen monster voor op de amplificatie door het 2-3 keer om te keren om het te mengen.
5. Verwijder de doppen van de buisjes.
6. Plaats de gemengde lysaatbuisjes op het 3M Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk en verwarm gedurende 5 ± 1 minuten op een temperatuur van 100 ± 1 °C.
7. Haal het rek met buisjes met 3M Lyse-oplossing uit het verwarmingsblok en laat het minimaal 5 minuten en maximaal 10 minuten afkoelen in het 3M Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk.
8. Ga verder met het protocol zoals hierboven in het hoofdstuk **Amplificatie** beschreven.

Referenties:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Verklaring van symbolen

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Produktinformation

Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7)

Produktbeskrivning och avsedd användning

3M™ Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) används med 3M™ Molekylärt Detektionssystem för snabb och specifik detektion av *E. coli* O157 (inklusive H7) i anrikade livsmedels- och foderprover.

3M Molekylära Detektionsanalyser använder LAMP-teknik (Loop-Mediated Isothermal Amplification) för att snabbt amplifiera nukleinsyrasekvenser med hög specificitet och sensitivitet kombinerat med bioluminescens för att detektera amplifieringen. Presumtivt positiva resultat rapporteras i realtid medan negativa resultat visas när analysen har slutförts. Presumtivt positiva resultat bör bekräftas med hjälp av egen vald metod eller som specificeras av lokala föreskrifter^(1, 2, 3).

3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) är avsedd för användning i laboratoriemiljö av yrkespersoner som är utbildade i laboratorieteknik. 3M har inte dokumenterat användningen av denna produkt inom andra industrier än livsmedels- och dryckesindustrin. 3M har exempelvis inte dokumenterat produkten för testning av miljöprover, läkemedel, kosmetika, kliniska prover eller veterinärprover. 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) har inte utvärderats med samtliga möjliga livsmedelsprodukter, livsmedelsbearbetningsmetoder, testprotokoll eller bakteriestammar.

Precis som för alla testmetoder kan källan till, beredningen av och kvaliteten på anrikningsmediet påverka resultaten.

Faktorer som provtagningsmetoder, testprotokoll, provpreparering, hantering och laboratorieteknik kan också påverka resultaten. 3M rekommenderar att metoden, inklusive anrikningsmediet, utvärderas i användarens miljö med tillräckligt många prover av särskilda livsmedel och mikrobiella utmaningar för att säkerställa att metoden uppfyller användarens kriterier.

3M har utvärderat 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) med buffrat peptonvatten ISO.

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

3M Food Safety är certifierat enligt den internationella standardiseringsorganisationen (ISO) 9001 avseende konstruktion och tillverkning.

3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) testsats innehåller 96 tester, som beskrivs i tabell 1.

Tabell 1. 3M Molekylär Detektionsanalys-kitkomponenter

Artikel	Identifikation	Antal	Innehåll	Kommentarer
3M™ Lyseringslösning (LS)	Rosa lösning i genomskinliga rör	96 (12 remsor om 8 rör)	580 µl 3M Lyseringslösning per rör	I ställ och klara att användas
3M™ Molekylär Detektionsanalys 2 – <i>E. coli</i> O157 (inklusive H7) reagensrör	Rosa rör	96 (12 remsor om 8 rör)	Specifik frystorkad amplifierings- och detektionsblandning	Klara att användas
Extra lock	Rosa lock	96 (12 remsor om 8 lock)		Klara att användas
3M™ Reagenskontroll (RC)	Genomskinliga rör med knäpplock	16 (2 påsar om 8 enskilda rör)	Frystorkad kontroll-DNA, amplifierings- och detektionsblandning	Klara att användas
Snabbstartguide		1		

Det negativa kontrollprovet (medföljer ej i satsen) är ett sterilt anrikningsmedium, t.ex. buffrat peptonvatten ISO. Använd inte vatten som negativ kontroll.



Säkerhet

Användaren ska läsa, förstå och följa all säkerhetsinformation i anvisningarna till 3M Molekylärt Detektionssystem och 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7). Behåll säkerhetsanvisningarna för framtida bruk.

⚠ VARNING: Indikerar en farlig situation som, om den inte undviks, kan resultera i dödsfall eller allvarliga personskador och/eller materiella skador.

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

⚠ VARNING

Använd inte 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) för diagnostisering av tillstånd hos människor eller djur.

Användaren måste utbilda sin personal i aktuella korrekta testmetoder: exempelvis Good Laboratory Practices, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ eller ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Följ protokollet och utför testerna exakt så som beskrivs i relevant produktinformation.
- Använd medium som förvärmats till $41,5 \pm 1$ °C. Låt inte mediets temperatur falla under inkuberingens temperaturintervall under provberedningen.
- Förvara 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) enligt föreskrifterna på dess förpackning och i dess produktinformation.
- Använd alltid 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) före utgångsdatumet.
- Använd 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) med prover från livsmedel, foder och livsmedelsbearbetningsmiljöer som har validerats internt eller av tredje part.
- Använd endast 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) med ytor, desinficeringsmedel, protokoll och bakteriestammar som har validerats internt eller av tredje part.
- För miljöprov innehållande neutraliseringsbuffert (NB) med arylsulfonatkomplex, späd till 1:2 innan testet utförs (1 del prov till 1 del steril anrikningsbuljong). Ett annat alternativ är att föra över 10 µl av neutraliserande buffertanrikning i 3M Lyseringslösningörret. 3MTM provhanteringsprodukter som inkluderar 3MTM neutraliseringsbuf fert med arylsulfonatkomplex: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB och HS119510NB.

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

- Utför tester av patogener i ett välutrustat laboratorium under överinseende av utbildad personal. Inkuberat anrikningsmedium och utrustning eller ytor som har haft kontakt med inkuberat anrikningsmedium kan innehålla patogener vid nivåer som är tillräckliga för att utgöra en hälsorisk för människor.
- Följ alltid praxis för standardiserad laboratoriesäkerhet, inklusive användning av lämpliga skyddskläder och skyddsglasögon vid hantering av reagenser och kontaminerade prover.
- Undvik kontakt med innehållet i anrikningsmediet och reagensrören efter amplifiering.
- Kassera anrikade prover och tillhörande kontaminerat avfall enligt gällande lokala/regionala/nationella standarder eller branschstandarder.
- Överskrid inte rekommenderad temperaturinställning på uppvärmningsanordningen.
- Överskrid inte den rekommenderade uppvärmningstiden.
- Använd en lämplig, kalibrerad termometer (t.ex. en termometer för delvis nedsänkning eller en digital värmeelementstermometer, inte en termometer för fullständig nedsänkning) för att kontrollera temperaturen i 3MTM Molekylär Detektion, Insats för värmeblock. Termometern måste placeras på anvisad plats i 3M Molekylär Detektion, Insats för värmeblock.

För att minska riskerna för korskontaminering vid analysförberedelserna:

- Bär alltid handskar (för att skydda användaren och förhindra införsel av nukleaser).

För att minska riskerna som förknippas med exponering för heta vätskor:

- Överskrid inte rekommenderad temperaturinställning på uppvärmningsanordningen.
- Överskrid inte den rekommenderade uppvärmningstiden.
- Använd en lämplig, kalibrerad termometer (t.ex. en termometer för delvis nedsänkning eller en digital värmeelementstermometer, inte en termometer för fullständig nedsänkning) för att kontrollera temperaturen i 3MTM Molekylär Detektion, Insats för värmeblock. Termometern måste placeras på anvisad plats i 3M Molekylär Detektion, Insats för värmeblock.



OBSERVERA

För att minska riskerna för korskontaminering vid analysförberedelserna:

- Användning av sterila pipettspetsar med aerosolbarriär (filterade) för molekylärbiologiskt bruk rekommenderas.
- Använd en ny pipettspets för varje provöverföring.
- Följ god laboratoriesed vid överföringen av provet från anrikningsröret till lyseringsröret. För att undvika kontaminering av pipetten kan användaren välja att lägga till ett mellanliggande överföringssteg. Exempelvis kan användaren föra över varje anrikat prov till ett sterilt rör.
- Använd en arbetsstation avsedd för molekylärbiologi med bakteriedödande lampa om sådan finns tillgänglig.

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

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

Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information och lokala föreskrifter för kassering.

Om du har frågor om specifika tillämpningar eller procedurer kan du besöka vår hemsida på www.3M.com/foodsafety eller kontakta din lokala representant eller återförsäljare för 3M.

Användaransvar

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

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

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

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

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

För att hjälpa kunder att utvärdera metoden för olika livsmedelsmatriser har 3M utvecklat satsen 3M™ Molekylär Detektion Matris Kontroll. Vid behov kan Matriskontroll (MC) användas för att avgöra om matrisen förmår påverka resultaten hos 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7). Testa flera prover som är representativa för matrisen, d.v.s. prover som inhämtats från olika källor, vid varje valideringstillfälle när 3M-metoden används eller när nya eller okända matriser eller matriser som har genomgått råmaterial- eller bearbetningsändringar testas.

En matris kan definieras som en typ av produkt med särskilda egenskaper, såsom sammansättning eller bearbetning. Skillnaderna mellan matriser kan bestå av något så enkelt som effekterna som orsakas av skillnader i bearbetning eller utformning, till exempel rå kontra pastöriserad, färsk kontra torkad, o.s.v.

Garantibegränsningar/begränsad ersättning

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

Begränsning av 3M:s ansvar

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

Förvaring och kassering

Förvara 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) vid 2–8 °C. Förvara inte i frysk. Förvara satsen på en mörk plats. Kontrollera att foliepåsen är oskadad när satsen har öppnats. Använd inte om påsen är skadad. Efter att påsen har öppnats ska oanvända reagensrör alltid förvaras i den återförslutningsbara påsen med torkmedlet inuti för att bevara de frystorkade reagensernas stabilitet. Förvara återförslutna påsar vid 2–8 °C i högst 60 dagar.

Använd inte 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) efter utgångsdatumet. Utgångsdatum och partinummer anges på etiketten på lådans utsida. Efter användning kan anrikningsmediet och rören till 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) eventuellt innehålla patogena material. Följ gällande branschstandarder för kassering av kontaminerat avfall när testen har genomförts. Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information och lokala föreskrifter för kassering.

Bruksanvisning

Följ alla anvisningar noggrant. Underlåtenhet att göra detta kan leda till felaktiga resultat.

Användaren måste genomgå utbildningen i driftkvalifikation för 3M Molekylärt Detektionssystem, enligt beskrivningen i dokumentet ”Protokoll för installationskvalifikation (IQ)/driftkvalifikation (OQ) och anvisningar för 3M Molekylärt Detektionssystem”⁽⁷⁾.

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

Se avsnittet ”Specifika anvisningar för validerade metoder” för särskilda krav:

Tabell 3 för anrikningsprotokoll enligt AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

Tabell 4 för anrikningsprotokoll enligt NF Validation-certifikatet 3M 01/18-05/17

Provanrikning

I tabell 2, 3 eller 4 visas en vägledning till anrikningsprotokoll för livsmedelsprover. Användaren ansvarar för att validera alternativa provtagningsprotokoll eller spädningsförhållanden för att säkerställa att testmetoden uppfyller användarens kriterier.

Livsmedel

1. Förvärm anrikningsmediet buffrat peptonvatten ISO till $41,5 \pm 1$ °C.
2. Kombinera anrikningsmediet och provet aseptiskt enligt tabellerna 2, 3 eller 4. För prover med kött och som innehåller en stor mängd partiklar rekommenderas att filterpåsar används.
3. Homogenisera alla matriser förutom bladprodukter och frukt, noggrant genom att blanda, stomachera eller handblanda i $2 \pm 0,2$ minuter. Inkubera vid $41,5 \pm 1$ °C under lämplig tidsperiod enligt tabellerna 2, 3 eller 4.

Tabell 2. Allmänna anrikningsprotokoll

Provmatrix ^(a)	Provstorlek	Anrikningsbuljongvolym (ml)	Anrikningstemperatur (± 1 °C)	Anrikningstid (h)
Rått nötkött inklusive köttfärs och putsat kött	325 g	975 BPW ISO (förvärm)	41,5	10–18
Rått kött inklusive råbiff, fläsk, fågel, lamm och bison	25 g	225 BPW ISO (förvärm)	41,5	8–18
Bladprodukt ^(b)	200 g	450 BPW ISO (förvärm)	41,5	18–24
Andra livsmedel inklusive frukt ^(b) , grönsaker, frukt-/grönsaksjuicer, färska kryddor, rå fisk och råa skaldjur, råa ägg, rå mjölk, kakdeg samt bearbetat kött	25 g	225 BPW ISO (förvärm)	41,5	18–24
Valnötter och nötblandningar som innehåller valnötter (detta protokoll passar andra nötter inklusive pekannötter, mandlar, pistagenötter, cashewnötter och kastanjer)	25 g	225 rekonstruerad fettfri torr mjölk	41,5	18–24

(a) Frysta prover ska värmas till 4–8 °C innan de tillsätts anrikningsbuljongen.

(b) Bladprodukter och fruktprover ska omröras försiktigt för hand i 5 minuter. Blanda eller stomachera inte.

Specifika anvisningar för validerade metoder

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

I AOAC Official Method of AnalysisSM-program befanns 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) vara en effektiv metod för att upptäcka *E. coli* O157:H7. Matriserna som testades i studien visas i tabell 3.

Tabell 3. Anrikningsprotokoll som använder föruppvärmt buffrat peptonvatten ISO vid $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ enligt AOAC® Official MethodsSM 2017.01

Provmatris	Provstorlek	Anrikningsbuljongvolym (ml)	Anrikningstid (h)	Homogeniserad
Rå oxfärs (73 % fettfritt)	325 g	975	10–18	Manuellt för hand eller genom att stomachera
Rå spenat i påse ^(a)	200 g	450	18–24	Rör om försiktigt för hand i 5 minuter, homogenisera ej
Färska groddar	25 g	225	18–24	Rör om försiktigt för hand i 5 minuter, homogenisera ej
Frysta blåbär ^{(a)(b)}	25 g	225	18–24	Rör om försiktigt för hand i 5 minuter, homogenisera ej

(a) Bladprodukter och fruktprover ska omröras försiktigt för hand i 5 minuter. Blanda eller stomachera inte.

(b) Frysta prover ska värmas till 4–8 °C innan de tillsätts anrikningsbuljongen.

NF Validation av AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

För ytterligare information om valideringslut, läs NF VALIDATION-certifikatet som finns tillgängligt på ovan angivna webbsida.

NF VALIDATION-certifierad metod i enlighet med ISO 16140-2⁽⁶⁾ i jämförelse med ISO 16654⁽³⁾

Omfattning av valideringen: Rått oxkött, råa mejeriprodukter, råa frukter och grönsaker

Provberedning: Prover bör beredas enligt EN ISO 16654 EN ISO 6887⁽⁶⁾

Mjukvaruversion: Se certifikat

Tabell 4. Anrikningsprotokoll som använder föruppvärmt buffrat peptonvatten ISO vid $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ enligt NF VALIDATION-certifierad metod 3M 01/18-05/17

Protokoll	Provstorlek	Anrikningsbuljongvolym (ml)	Anrikningstemperatur ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Anrikningstid (h)
Råa mejeriprodukter, rå frukt och råa grönsaker	25 g	225	41,5	18–24
Rått nötkött	25 g	225	41,5	8–24

**ANMÄRKNING:**

- Prover större än 25 g har inte testats i NF VALIDATION-studien.
- De rekommenderade protokollbrytpunkterna är efter anrikning eller efter lysering av provet. Anrikningsbuljong eller provlysat kan förvaras i 2–8 °C i upp till 72 timmar. Efter det att anrikningsbuljongen har avlägsnats från förvaringsplatsen kan testet återupptas från steg 1 i avsnittet **Lysering**. Efter att provlysatet har avlägsnats från förvaringsplatsen kan testet återupptas från steg 7 i avsnittet **Lysering**. Lysatet kan också förvaras vid -20 °C.
- Korta anrikningsprotokoll är känsliga för inkuberingsförhållanden och temperaturerna som anges i protokollet måste följas. Temperaturen i vattenbadet eller i inkubatorn där buljongerna förväms bör kontrolleras för att garantera att anrikningsbuljongen når erforderlig temperatur. Den sammanlagda tiden för provberedning, inklusive fördröjningen mellan slutet av steget för förvärmning av mediet och början av inkubering av livsmedelsprovet får inte överstiga 45 minuter. Under inkuberingen rekommenderas ett en ventilerad inkubator används.

Förberedelse av 3M™ Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda

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

Förberedning av 3M™ Molekylär Detektion, Insats för kylblock

Placera 3M Molekylär Detektion, Insats för kylblock direkt på laboratoriebanken: 3M Molekylär Detektion, Kylblocksåda används inte. Använd blocket i laboratoriets omgivningstemperatur (20–25 °C).

Förberedelse av 3M™ Molekylär Detektion, Insats för värmeblock

Lägg 3M Molekylär Detektion, Insats för värmeblock i en torr dubbelblocksvärmare. Aktivera den torra blockvärmaren och ställ in temperaturen så att 3M Molekylär Detektion, Insats för värmeblock tillåts uppnå och bibehålla en temperatur på 100 ± 1 °C.

OBSERVERA: Beroende på värmaren tar det cirka 30 minuter för 3M Molekylär Detektion, Insats för värmeblock att uppnå rätt temperatur. Använd en lämplig, kalibrerad termometer (t.ex. en termometer för delvis nedsänkning eller en digital värmeelementstermometer, inte en termometer för fullständig nedsänkning) placerad på den avsedda platsen och kontrollera att 3M Molekylär Detektion, Insats för värmeblock har en temperatur på 100 ± 1 °C.

Beredning av 3M™ Molekylärt Detektionsinstrument

1. Öppna 3M™ Molekylär detektionsprogramvara och logga in. Kontakta din 3M-representant för livsmedelssäkerhet för att säkerställa att du har den senaste versionen av programvaran.
2. Aktivera 3M Molekylärt Detektionsinstrument.
3. Skapa eller redigera en datakörning för varje prov. Se användarhandboken till 3M™ Molekylärt Detektionssystem för detaljerad information.

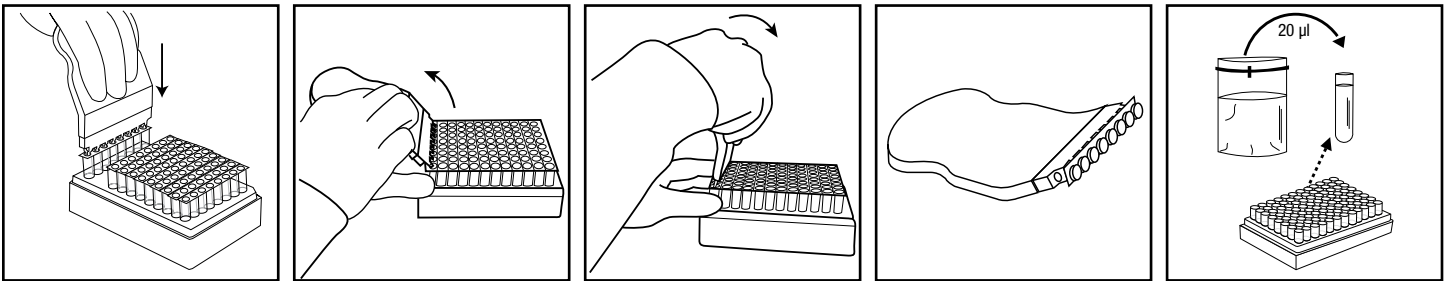
OBSERVERA: 3M Molekylärt Detektionsinstrument måste uppnå och bibehålla temperaturen 60 °C innan 3M Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda med reagensrör förs in. Detta uppvärmningssteg tar cirka 20 minuter och indikeras av en ORANGE lampa i instrumentets statusfält. När instrumentet är redo att starta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

Lysering

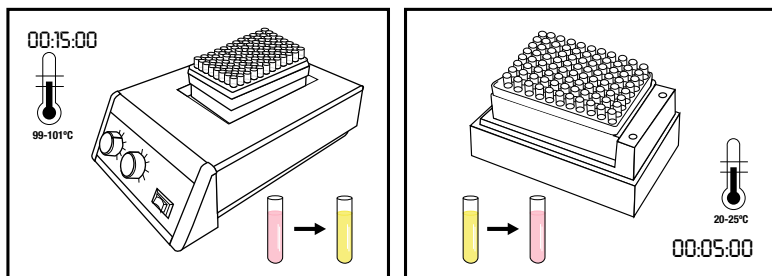
1. Låt 3M Lyseringslösningrör värmas upp genom att placera stället i rumstemperatur (20–25 °C) över natten (16–18 timmar). Alternativa metoder för att värma 3M Lyseringslösningrören till rumstemperatur är att ställa 3M Lyseringslösningrören på laboratoriebanken i minst 2 timmar, inkubera 3M Lyseringslösningrören vid 37 ± 1 °C i 1 timme eller placera dem i en torr dubbelblocksvärmare i 30 sekunder vid 100 °C.
2. Invertera de lockförsedda rören för att blanda. Fortsätt till nästa steg inom 4 timmar.
3. Ta ut anrikningsbuljongen från inkubatorn.
4. Ett 3M Lyseringslösningrör krävs för varje prov samt det negativa kontrollprovet (NC) (sterilt anrikningsmedium).
 - 4.1 Remsor med 3M Lyseringslösningrör kan klippas för önskat antal 3M Lyseringslösningrör. Välj det antal individuella 3M Lyseringslösningrör eller remsor om 8 rör som behövs. Placera 3M Lyseringslösningrören i ett tomt ställ.
 - 4.2 Undvik korskontaminering genom att öppna ett lock på en remsa med 3M Lyseringslösningrör i taget och använd en ny pipettspets vid varje överföringssteg.
 - 4.3 För över det anrikade provet till 3M Lyseringslösningrören enligt beskrivningen nedan:

För över varje anrikat prov till ett enskilt 3M Lyseringslösningrör **först**. Överför NC **sist**.

- 4.4 Använd 3M™ Molekylär Detektion, Cap/Decap Redskap – Lysering för att öppna en remsa med 3M Lyseringslösningsrör, en remsa i taget.
- 4.5 Kassera locket till 3M Lyseringslösningsröret – om lysatet ska behållas för omprov ska locken placeras i en ren behållare för återanvändning efter lysering.
 - 4.5.1 Se bilaga A för information om behandling av förvarat lysat.
- 4.6 Överför 20 µl prov till ett 3M Lyseringslösningsrör såvida inte annat anges i protokolltabellerna 2, 3 och 4.



5. Upprepa steg 4.3 tills varje enskilt prov har tillsatts i ett motsvarande 3M Lyseringslösningsrör i remsan.
6. Upprepa efter behov steg 4.1 till 4.6 för det antal prover som ska testas.
7. När alla prover har överförts ska 20 µl NC (sterilt anrikningsmedium, t.ex. buffrat peptonvatten (ISO)) överföras till ett 3M Lyseringslösningsrör. Använd inte vatten som NC.
8. Kontrollera att temperaturen på 3M Molekylär Detektion, Insats för värmeblock är 100 ± 1 °C.
9. Placera det oövertäckta stället med 3M Lyseringslösningsrör i 3M Molekylär Detektion, Insats för värmeblock och värm i 15 ± 1 minuter Under uppvärmningen kommer 3M Lyseringslösningen att ändra färg från rosa (kall) till gul (varm).
 Prover som inte har värmebehandlats korrekt under analysens lyseringssteg bör betraktas som en potentiell biologisk fara och ska INTE föras in i 3M Molekylär Detektionsinstrument.
10. Ta ut det oövertäckta stället med 3M Lyseringslösningsrör från värmeblocket och låt det svalna i 3M Molekylär Detektion, Insats för kylblock under minst 5 minuter men högst 10 minuter. 3M Molekylär insats för kylblock som används vid omgivningstemperatur utan 3M Molekylär Detektion, Kylblocksåda ska placeras direkt på laboratoriebänken. När lyseringslösningen svalnar återgår dess färg till rosa.
11. Ta ut stället med 3M Lyseringslösningsrör från 3M Molekylär Detektion, Insats för kylblock.

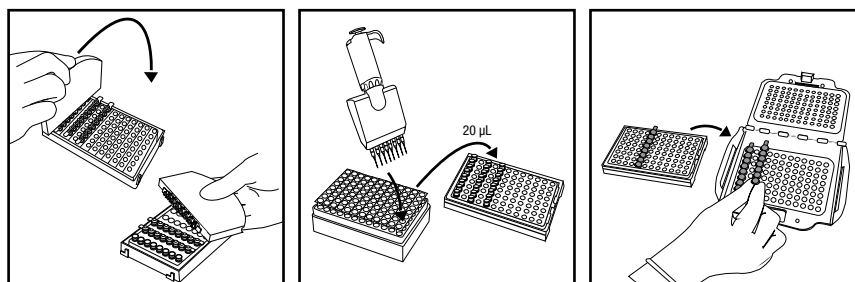


Amplifiering

1. Ett 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör krävs för varje prov och för NC-provet.
 - 1.1 Remsorna med rör kan klippas till önskat antal rör. Välj antalet enskilda 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör eller remsor om 8 rör som behövs.
 - 1.2 Placera 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör i ett tomt ställ.
 - 1.3 Undvik att röra upp reagenspelletsarna i provrörens botten.
2. Välj ett rör för 3M Reagenskontroll och placera det i stället.
3. Undvik korskontaminering genom att öppna ett lock på en remsa med 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör i taget och använd en ny pipettspets vid varje överföringssteg.
4. För över lysat till ett 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör och ett rör för 3M Reagenskontroll enligt beskrivningen nedan:

Överför varje provlysat till enskilda 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör **först**, följt av NC. Hydrera rör för 3M Reagenskontroll **sist**.

5. Använd 3M™ Molekylär Detektion, Cap/Decap Redskap - Reagens för att öppna 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör – en rörremsa i taget. Kassera locket.
 - 5.1 För över 20 µl av provlysat från den övre ½ av vätskan (undvik utfällning) i 3M Lyseringslösningsröret till motsvarande 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör. Dispensera i en vinkel för att undvika att pelletsarna rörs upp. Blanda genom att pipettera upp och ned 5 gånger.
 - 5.2 Upprepa steg 5.1 tills enskilda provlysat har lagts till i ett motsvarande 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör i remsan.
 - 5.3 Täck 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör med medföljande extralock och använd den rundade sidan av 3M Molekylär Detektion, Cap/Decap Redskap – Reagens och pressa fram och tillbaka för att stänga locket ordentligt.
 - 5.4 Upprepa efter behov steg 5.1 till 5.3 för det antal prover som ska testas.
 - 5.5 När alla provlysat har överförs upprepar du 5.1 till 5.3 för att överföra 20 µl NC-lysat i en 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör.
 - 5.6 För över 20 µl av NC-lysat i ett rör för 3M Reagenskontroll. Dispensera i en vinkel för att undvika att pelletsarna rörs upp. Blanda genom att pipettera upp och ned 5 gånger.
6. Ladda de förslutna provrören i en ren och dekontaminerad 3M Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda. Stäng sedan och lås locket.



7. Granska och bekräfta den konfigurerade körningen i 3M Molekylär detektionsprogramvara.
8. Klicka på startknappen i programmet och välj vilket instrument som ska användas. Det valda instrumentets lock öppnas automatiskt.
9. Placera 3M Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda i 3M Molekylärt Detektionsinstrument och stäng locket för att starta analysen. Resultaten ges inom 60 minuter, men positiva resultat kan detekteras tidigare.
10. Ta ut 3M Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda från 3M Molekylärt Detektionsinstrument när analysen har slutförts och kassera rören genom att blötlägga dem i en 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning för hushållsanvändning i 1 timme på avstånd från analysberedningsområdet.

OBSERVERA: För att minimera risken för falskt positiva resultat på grund av korskontaminering ska reagensprovror med amplifierad DNA aldrig öppnas. Detta inkluderar rör för 3M Reagenskontroll, 3M Molekylär Detektionsanalys 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensrör och 3M Matriskontroll. Kassera alltid förslutna reagensrör genom att blötlägga dem i en 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning i 1 timme på avstånd från analysberedningsområdet.

Resultat och tolkning

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

Presumtivt positiva resultat bör bekräftas enligt laboratoriets standardrutiner eller genom att följa lämplig bekräftelse från referensmetoden^(1,2,3), med början med överföringen från den primära BPW ISO-anrikningen till den sekundära anrikningsbuljongen, åtföljt av uppläggning och bekräftelse av isolater med hjälp av lämpliga biokemiska och serologiska metoder.

OBSERVERA: Inte ens ett negativt prov kommer att ge ett nollresultat eftersom systemet och amplifieringsreagenserna i 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7), innehåller en tidigare RLU-avläsning.

Skulle ovanlig ljusutstrålning förekomma, vilket är sällsynt, märker algoritmen detta med "Inspektera". 3M rekommenderar att användaren upprepar analysen av prover som resulterar i Inspektera. Om resultatet fortsätter att vara Inspektera ska du gå vidare till testbekräftelse med den metod du föredrar eller så som anges i lokala föreskrifter.



I fall av icke överensstämmande resultat (presumtivt positiva med 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7), ej bekräftade med någon av de beskrivna metoderna ovan och i synnerhet för latexagglutinationstestet), måste laboratoriet följa de obligatoriska stegen för att säkerställa validiteten för de erhållna resultaten.

Bekräftelse av resultat enligt NF VALIDATION-certifierad metod

I samband med NF VALIDATION måste alla prover som har identifierats som positiva av 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) bekräftas med ett av följande tester:

Alternativ 1: Använda standarden ISO 16654⁽³⁾ standard med utgångspunkt från den buffrade peptonvatten⁽³⁾-anrikningen.

Alternativ 2: Implementera en bekräftelsemetod som består av följande: Stryk 50 µl av den buffrade peptonvatten⁽³⁾-anrikningen på en Cefixime Kaliumtellurit Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾-agarplatta. Inkubera i 24 ± 3 timmar vid 37 °C. Stryk karakteristiska kolonier på näringsagar och genomför latexagglutinationstest direkt på isolerade kolonier. Om 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) resultat inte har bekräftats, utför ett immunomagnetiskt separationssteg och stryk sedan 50 µl på CT-SMAC.

Alternativ 3: Använd nukleinsyraundersökningar enligt beskrivning i standarden EN ISO 7218⁽⁵⁾, som utförts på isolerade kolonier (renade eller ej) från CT-SMAC (se alternativ 1 eller 2). Nukleinsyraundersökningarna måste vara annorlunda än de som användes i 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7).

Alternativ 4: Använd någon annan certifierad NF VALIDATION-metod, vars princip måste vara annorlunda än den som används i 3M Molekylär Detektionsanalys 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7). Hela protokollet för denna andra validerade metod måste användas. Alla steg före starten av bekräftelsen måste vara gemensamma för båda metoderna.

I fall av icke överensstämmande resultat (presumtivt positiva med den alternativa metoden, ej bekräftade med någon av de beskrivna metoderna ovan) måste laboratoriet följa de obligatoriska stegen för att säkerställa validiteten för de erhållna resultaten.

Om du har frågor om specifika tillämpningar eller procedurer kan du besöka vår hemsida på www.3M.com/foodsafety eller kontakta din lokala representant eller återförsäljare för 3M.

Bilaga A. Protokollavbrott: Förvaring och omprovning av prover

1. Återförslut lyseringsprovörret med ett rent lock (se avsnittet **Lysering**, 4.5) för att förvara ett värmebehandlat lysat.
2. Inkubera i minst 18 timmar före förvaring av ett anrikt prov.
3. Förvara vid 4 till 8 °C i upp till 72 timmar.
4. Förbered ett förvarat prov för amplifiering genom att vända det upp och ned 2–3 gånger så att det blandas.
5. Avlägsna locken från rören.
6. Placera de blandade lysatrören i 3M Molekylär Detektion, Insats för värmeblock och värm vid 100 ± 1 °C i 5 ± 1 minuter.
7. Ta bort stället med 3M Lyseringslösningrör från värmeblocket, och låt det svalna i 3M Molekylär Detektion, insats för kylblock i minst 5 minuter och högst 10 minuter.
8. Fortsätt enligt protokollet i avsnittet **Amplifiering** som beskrivs ovan.

Referenser:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Symbolförklaringar

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Produktvejledning

Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7)

Produktbeskrivelse og tilsigtet anvendelse

3M™ Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) bruges sammen med 3M™ Molekylær Detektions System til hurtig og præcis detektion af *E. coli* O157 (inklusive H7) i opformerede fødevarerprøver og fødevarer miljøprøver.

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

3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) er beregnet til brug i laboratorieomgivelser af professionelle, der er uddannet i laboratorietechnik. 3M har ikke dokumenteret brugen af dette produkt i andre brancher end føde- og drikkevarer. For eksempel har 3M ikke dokumenteret dette produkt til test af miljøprøver, medicinalvarer eller kosmetiske, kliniske eller veterinære prøver. 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) er ikke blevet evalueret med alle mulige fødevarer, fødevarerprocesser, testprotokoller eller med alle mulige bakteriestammer.

Som for alle testmetoder kan kilden, sammensætningen og kvaliteten af opformeringsmediet påvirke resultatet.

Faktorer så som prøvetagningsmetoder, testprotokoller, klargørelse af prøver, håndtering samt laboratorietechnik kan ligeledes påvirke resultaterne. 3M anbefaler evaluering af metoden inklusive opformeringsmediet i brugerens omgivelser ved hjælp af et tilstrækkeligt antal prøver med specifikke fødevarer og mikrobielle udfordringer for at sikre, at metoden opfylder brugerens kriterium.

3M har vurderet 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) med Bufferet Peptonvand ISO.

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

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

3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) testkittet indeholder 96 test, beskrevet i tabel 1.

Tabel 1. Komponenter i 3M Molekylær Detektions Analyse analysesæt

Artikel	Identifikation	Kvantitet	Indholdsfortegnelse	Kommentarer
3M™ Lysinopløsning (LS)	Lyserød opløsning i klare reagensglas	96 (12 strimler med 8 reagensglas)	580 µl 3M lysin pr. reagensglas	På holder og klar til brug
3M™ Molekylær Detektions Analyse 2 - <i>E. coli</i> O157 (inklusive H7) reagensglas	Lyserøde reagensglas	96 (12 strimler med 8 reagensglas)	Frysetørret, specifik amplifikations- og detektionsblanding	Klar til brug
Ekstra hætter	Lyserøde hætter	96 (12 strimler med 8 hætter)		Klar til brug
3M™ Reagens Kontrol (RC)	Klare reagensglas med flip-top	16 (2 poser med 8 individuelle reagensglas)	Frysetørret kontrol-DNA, amplifikations- og detektionsblanding	Klar til brug
Kvik-start guide		1		

Den negative kontrol, som ikke medfølger i kittet, er et sterilt opformeringsmedie, f.eks. BPW ISO. Brug ikke vand som en negativ kontrol.



Sikkerhed

Brugeren skal læse, være indforstået med og følge alle sikkerhedsoplysninger i vejledningen til 3M Molekylær Detektions System og 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7). Gem sikkerhedsvejledningen til fremtidig reference.

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

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

⚠ ADVARSEL

3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) må ikke anvendes til diagnosticering af sygdomme på mennesker eller dyr.

Brugeren skal uddanne sit personale i aktuelle korrekte prøveteknikker: for eksempel god laboratoriepraksis, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ eller ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Følg protokollen, og udfør tests præcis som angivet i produktvejledningen.
- Anvend et medie, der er forvarmet til $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$. Mediets temperatur må ikke falde til under inkubationstemperaturområdet under klargøringen af prøven.
- Opbevar 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) som angivet på pakken og i produktvejledningen.
- Anvend altid 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) inden udløbsdatoen.
- Benyt 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) med miljøprøver fra fødevarer, dyrefoder og fødevarerprocesser, der er valideret internt eller af tredjepart.
- Anvend udelukkende 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) med overflader, desinfektionsmidler, protokoller og bakteriestammer, der er blevet evalueret internt eller af tredjepart.
- For at lave en miljøprøve, der indeholder neutraliserende buffer (NB) med aarylsulfonatkompleks, foretages fortynding 1:2 inden testning (1 del prøve til 1 del steril opformeringsbouillon). En anden mulighed er at overføre 10 µl af den neutraliserende opformeringsbuffer til 3M lysinbehandlingsreagensglassene. 3M™-produkter til prøvehåndtering, som inkluderer 3M™ neutraliserende buffer med aarylsulfonatkompleks: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB og HS119510NB.

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

- Foretag patogenetestning i et korrekt udstyret laboratorium under uddannet personales kontrol. Inkuberet opformeringsmedie og udstyr eller overflader, der har været i kontakt med inkuberet opformeringsmedie, kan indeholde patogenniveauer, der er tilstrækkelige til at udgøre en risiko for menneskelig sundhed.
- Følg altid sikkerhedspraksis for et standardlaboratorium, inklusive brug af passende beskyttelsesudstyr og beskyttelsesbriller under håndtering af reagenser og kontaminerede prøver.
- Undgå kontakt med indholdet af opformeringsmediet og reagensglas efter amplifikation.
- Bortskaf opførte prøver og kontamineret affald forbundet hermed i overensstemmelse med den aktuelle lokale/regionale/nationale lovgivning.
- Overskrid ikke den anbefalede temperaturindstilling på varmeelementet.
- Overskrid ikke den anbefalede opvarmningstid.
- Brug et passende, kalibreret termometer til at verificere temperaturen for 3M™ Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg (f.eks. et termometer til delvis nedsenkning eller et digitalt termoelementtermometer, ikke et termometer til hel nedsenkning). Termometeret skal anbringes på det dertil indrettede sted i 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg.

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

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

For at reducere risici forbundet med eksponering med varme væsker:

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



BEMÆRK

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

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

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

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

Se sikkerhedsdatabladet for yderligere oplysninger og lokale vedtægter for bortskaffelse.

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

Brugerens ansvar

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

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

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

Det er også brugerens eget ansvar at kontrollere, at alle testmetoder og resultater lever op til kundernes og leverandørernes krav.

Som med alle andre testmetoder gælder det, at de resultater, der opnås med dette 3M Food Safety-produkt, ikke giver garanti for kvaliteten af de testede matricer og processer.

For at hjælpe kunder med at evaluere metoden til flere forskellige fødevarer matricer har 3M udviklet 3M™ Molekylær Detektions Matrix Kontrol-kit. Efter behov kan Matrix Kontrol (MC) anvendes til at afgøre om matricen har evnen til at påvirke resultaterne af 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7). Test flere forskellige repræsentative prøver fra matricen, dvs. prøver hentet fra forskellige kilder, fra enhver valideringsperiode under anvendelse af 3M-metoden eller under testning af nye eller ukendte matricer eller matricer, der har gennemgået ændringer i råmaterialet eller i processen.

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

Begrænsning af garantier/begrænset retsmiddel

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

Begrænsning af 3M's ansvar

3M KAN IKKE HOLDES ANSVARLIG FOR NOGEN TAB ELLER SKADER, UANSET OM DET DREJER SIG OM DIREKTE, INDIREKTE, SÆRSKILT DOKUMENTEREDE, HÆNDELIGE SKADER ELLER FØLGESKADER, HERUNDER, MEN IKKE BEGRÆNSET TIL MISTET FORTJENESTE. Under ingen omstændigheder skal 3M's erstatningsansvar kunne overstige købsprisen for det produkt, der efter sigende er behæftet med fejl.



Opbevaring og bortskaffelse

Gem 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) ved 2-8°C. Må ikke fryses. Opbevar kittet på et mørkt sted. Efter åbning skal det kontrolleres, at folieposen er intakt. Hvis posen er beskadiget, må produktet ikke anvendes. Efter åbning bør ubenyttede reagensglas altid opbevares i den genlukkelige pose med tørremidlet indeni for at opretholde de frysetørrede reagensers stabilitet. Opbevar de forseglede poser ved temperaturer mellem 2-8°C i højst 60 dage.

3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) må ikke anvendes efter udløbsdatoen. Udløbsdato og varepartinummer findes på æskens udvendige mærkat. Efter brug kan det opformerede medie og 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas muligvis indeholde sygdomsfremkaldende materialer. Når testning er fuldført, bedes du følge de gældende branchestandarder for bortskaffelse af kontamineret affald. Se sikkerhedsdatabladet for yderligere oplysninger og lokale vedtægter for bortskaffelse.

Brugsanvisning

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

Brugeren skal fuldføre undervisningen til brugerqualifikation til 3M Molekylær Detektions System som beskrevet i dokumentet "Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for 3M Molecular Detection System"⁽⁷⁾.

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

Se afsnittet "Specifik vejledning i validerede metoder" for specifikke krav:

Tabel 3 for opformeringsprotokoller ifølge AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

Tabel 4 for opformeringsprotokoller ifølge NF Validation-certifikat 3M 01/18-05/17

Prøveopformering

Tabel 2, 3 eller 4 viser retningslinjer for opformeringsprotokoller for fødevarer. Det er brugerens ansvar at evaluere alternative prøveprotokoller eller blandingsforhold for at sikre, at denne testmetode imødekommer brugerens kriterier.

Fødevarer

1. Forvarm BPW ISO opformeringsmedie til 41,5 ± 1°C.
2. Kombiner opformeringsmediet og prøven aseptisk iht. tabel 2, 3 eller 4. Til alle kødprøver og højpartikelprøver anbefales brug af filterposer.
3. Homogeniser alle matricer undtagen bladgrønt og frugt grundigt med blanding, centrifugering eller håndmixing i 2 ± 0,2 minutter. Inkuber ved 41,5 ± 1°C i det relevante tidsrum iht. tabel 2, 3 eller 4.

Tabel 2. Generelle opformeringsprotokoller

Prøvematrice ^(a)	Prøvestørrelse	Opformeringsbouillonens volumen (ml)	Opformeringstemperatur (±1°C)	Opformeringstid (timer)
Råt oksekød omfatter hakket og fraskåret kød	325 g	975 BPW ISO (forvarmet)	41,5	10-18
Råt kød inklusive rå oksekød, svinekød, fjerkræ, lam og bison	25 g	225 BPW ISO (forvarmet)	41,5	8-18
Bladgrønt ^(b)	200 g	450 BPW ISO (forvarmet)	41,5	18-24
Andre fødevarer, herunder frugt ^(b) , grøntsager, frugt-/grøntsagsjuice, friske krydderurter, rå fisk/skaldyr, rå æg, rå mælk, småkagedej og forarbejdede kødprodukter	25 g	225 BPW ISO (forvarmet)	41,5	18-24
Valnødder eller nøddeblandinger, som indeholder valnødder (denne protokol kan anvendes for andre nødder, herunder pecannødder, mandler, pistacienødder, cashewnødder og kastanjer)	25 g	225 rekonstitueret fedtfri tørmælk	41,5	18-24

(a) Frosne prøver skal stabiliseres til 4-8°C, før de tilsættes til opformeringsbouillon.

(b) Prøver af bladgrønt og frugt skal agiteres forsigtigt med håndkraft i 5 minutter. De må ikke blendes eller centrifugeres.



Specifik vejledning for validerede metoder

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

I programmet AOAC Official Method of AnalysisSM har 3M Molekylær Detektions Analyse 2 – *E. coli* O157 (inklusive H7) vist sig at være en effektiv metode til detektion af *E. coli* O157:H7. Matricerne, der er testet i denne undersøgelse, er vist i Tabel 3.

Tabel 3. Opformeringsprotokoller med brug af forvarmet BPW ISO ved $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ ifølge AOAC® Official MethodsSM 2017.01

Prøvematrix	Prøvestørrelse	Opformeringsbouillonens volumen (ml)	Opformeringsstid (timer)	Homogeniseret
Råt hakket oksekød (27 % fedt)	325 g	975	10-18	Manuelt med håndkraft eller ved centrifugering
Rå spinat i pose ^(a)	200 g	450	18-24	Agiteres forsigtigt i 5 minutter, må ikke homogeniseres
Friske spirer	25 g	225	18-24	Agiteres forsigtigt i 5 minutter, må ikke homogeniseres
Frosne blåbær ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	Agiteres forsigtigt i 5 minutter, må ikke homogeniseres

(a) Prøver af bladgrønt og frugt skal agiteres forsigtigt med håndkraft i 5 minutter. De må ikke blendes eller centrifugeres.

(b) Frosne prøver skal stabiliseres til $4-8^\circ\text{C}$, før de tilsættes til opformeringsbouillon.

NF Validation med AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

For yderligere oplysninger om validering henvises der til NF VALIDATION-certifikatet, der er tilgængeligt på det ovenfor nævnte websted.

NF VALIDATION-certificeret metode i overensstemmelse med ISO 16140-2⁽⁸⁾ i sammenligning med ISO 16654⁽³⁾

Valideringsområdet: Råt oksekød, rå mælkeprodukter, rå frugt og grøntsager

Prøveforberedelse: Prøver bør forberedes i henhold til EN ISO 16654 og EN ISO 6887⁽⁶⁾

Softwareversion: Se certifikat

Tabel 4. Opformeringsprotokoller med brug af forvarmet BPW ISO ved $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ ifølge NF VALIDATION-certificeret metode 3M 01/18-05/17

Protokol	Prøvestørrelse	Opformeringsbouillonens volumen (ml)	Opformeringsstemperatur ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Opformeringsstid (timer)
Rå mælkeprodukter, rå frugt og rå grøntsager	25 g	225	41,5	18-24
Råt oksekød	25 g	225	41,5	8-24

**NOTER:**

- Prøver større end 25 g er ikke testet i NF VALIDATION-undersøgelsen.
- De anbefalede afbrydelsestidspunkter for protokollen er efter opformeringen eller efter lysinbehandlingen. Opformeringsbouillon eller prøvelysat kan opbevares ved 2-8°C i op til 72 timer. Når opformeringsbouillon er taget ud af opbevaring, genoptages testning fra trin 1 i afsnittet **Lysinbehandling**. Når lysatprøven er taget ud af opbevaring, genoptages testning fra trin 7 i afsnittet **Lysinbehandling**. Lysatet kan også opbevares ved -20°C.
- Korte opformeringsprotokoller er følsomme over for inkubationsbetingelser, og de temperaturer, der er angivet i protokollen, skal overholdes. Temperaturen i inkubatorens vandbad, hvor bouillon forvarmes, skal kontrolleres for at sikre, at opformeringsbouillon når den korrekte temperatur. Den samlede tid til forberedelse af prøven, inklusive forsinkelsen mellem afslutningen af forvarmningstrinnet for mediet og begyndelsen af inkuberingen af fødevarerprøven, må ikke overstige 45 minutter. Det anbefales at bruge en ventileret inkubator til inkubationen.

Forberedelse af 3M™ Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning

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

Forberedelse af 3M™ Molekylær Detektions Køleblok Indlæg

Anbring 3M Molekylær Detektions Køleblok Indlæg direkte på laboratoriebordet: 3M Molekylær Detektions Køleblok Bakke benyttes ikke. Brug blokken ved laboratorietemperatur (20-25°C).

Forberedelse af 3M™ Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg

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

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

Forberedelse af 3M™ Molekylær Detektions Instrument

1. Start softwaren til 3M™ Molekylær Detektion, og log på. Kontakt din 3M Food Safety-repræsentant for at sikre, at du har den mest opdaterede version af softwaren.
2. Tænd for 3M Molekylær Detektions Instrument.
3. Opret, eller rediger en kørsel med data for hver prøve. Se brugsanvisningen til 3M™ Molekylær Detektions System for flere oplysninger.

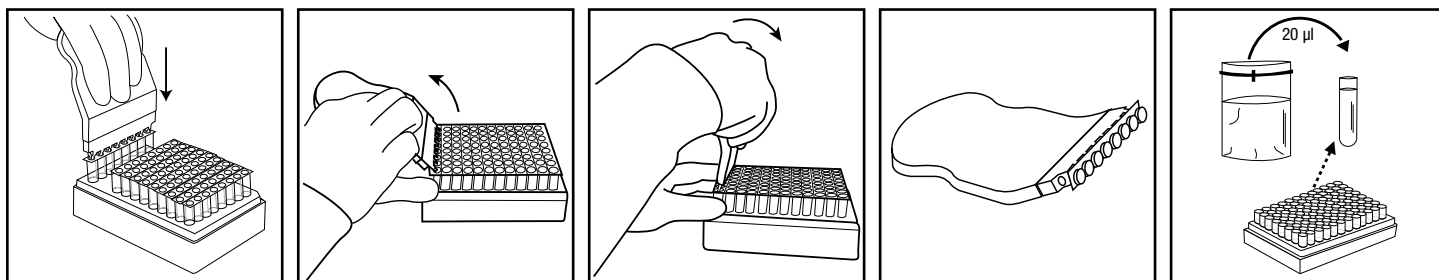
BEMÆRK: 3M Molekylær Detektions Instrument skal opnå og holde en temperatur på 60°C, før der indsættes reagensglas i 3M Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning. Dette opvarmningstrin varer ca. 20 minutter og bliver angivet med et ORANGE lys på instrumentets statussøjle. Når instrumentet er klar til en kørsel, lyser statussøjlen GRØNT.

Lysinbehandling

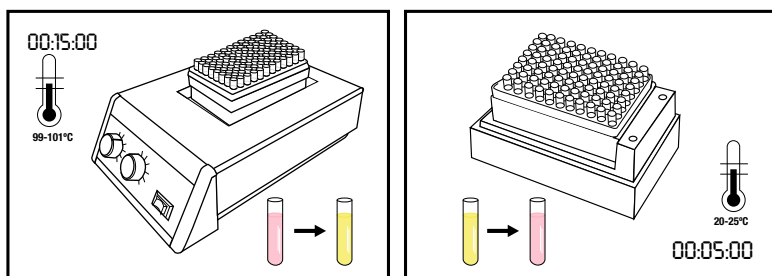
1. Lad 3M Lysinbehandlingsreagensglassene varmes op ved at indstille holderen på stuetemperatur (20-25°C) natten over (16-18 timer). Alternativer til at stabilisere 3M Lysinbehandlingsreagensglassene til stuetemperatur er at sætte 3M Lysinbehandlingsreagensglassene på arbejdsbordet i mindst 2 timer, inkubere 3M Lysinbehandlingsreagensglassene i en inkubator ved 37 ± 1°C i 1 time eller stille dem i en tør, dobbelt varmeblok i 30 sekunder ved 100°C.
2. Vend de lukkede reagensglas på hovedet for at blande. Gå til næste trin inden for 4 timer.
3. Fjern opformeringsbouillon fra inkubatoren.
4. Et 3M LS-reagensglas er påkrævet til hver prøve og til den negative kontrolprøve (NC) (sterilt opformeringsmedie).
 - 4.1 3M LS-reagensglasstrimler kan skæres til det ønskede antal reagensglas til 3M Lysinbehandlingsopløsning. Vælg antallet af individuelle 3M LS-reagensglas eller -strimler med 8 reagensglas efter behov. Sæt 3M LS-reagensglassene i en tom holder.
 - 4.2 Åbn én 3M LS-reagensglasstrimmel ad gangen for at undgå krydskontaminering, og brug en ny pipette til hvert overførselstrin.
 - 4.3 Overfør opformeret prøve til 3M LS-reagensglas som beskrevet nedenfor:

Overfør hver opformeret prøve til et individuelt 3M LS-reagensglas **først**. Overfør NC til **sidst**.

- 4.4 Brug 3M™ Molekylær Detektions Værktøj til Cap/Decap (lukning/åbning) – Lysin-behandling til at åbne én 3M LS-reagensglasstrimmel ad gangen.
- 4.5 Smid 3M LS-reagensglassets låg væk – hvis lysat skal gemmes til gentestning, så placer lågene i en ren beholder til genpåsætning efter lysinbehandlingen.
- 4.5.1 Ved behandling af gemt af lysat, se bilag A.
- 4.6 Overfør 20 µl af prøven til et 3M LS-reagensglas, medmindre andet er indikeret i protokoltabel 2, 3 og 4.



5. Gentag trin 4.3, indtil hver enkelt prøve er blevet tilføjet til et tilsvarende 3M Lysinbehandlingsreagensglas i strimlen.
6. Gentag trin 4.1 til 4.6 efter behov for det antal prøver, der skal testes.
7. Når alle prøver er blevet overført, skal der overføres 20 µl NC (sterilt opformeringsmedie, f.eks. BPW ISO) til et 3M Lysinbehandlingsreagensglas. Brug ikke vand som en NC.
8. Kontroller, at 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg har en temperatur på $100 \pm 1^\circ\text{C}$.
9. Anbring den utildækkede holder med 3M Lysinbehandlingsreagensglas i 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg, og opvarm i 15 ± 1 minutter. I løbet af opvarmningen vil 3M Lysinopløsningen skifte farve fra lyserød (kølig) til gul (varm). Prøver, som ikke er blevet korrekt varmebehandlet under analysens lysinbehandlingstrin, kan udgøre en væsentlig miljørisiko og bør IKKE sættes ind i 3M Molekylær Detektions Instrument.
10. Fjern den utildækkede holder med 3M LS-reagensglas fra varmeblokken, og lad den køle i 3M Molekylær Detektions Køleblok Indlæg i mindst 5 minutter og i højst 10 minutter. 3M Molekylær Køleblok Indlæg brugt ved stuetemperatur uden 3M Molekylær Detektions Køleblok Bakke bør stå direkte på laboriebordet. Når det er koldt, skifter lysinopløsningen farve tilbage til lyserød.
11. Fjern holderen med 3M LS-reagensglas fra 3M Molekylær Detektions Køleblok Indlæg.



Amplifikation

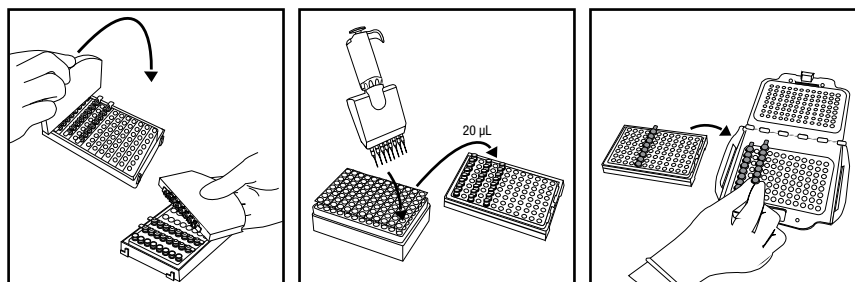
- Et 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas er påkrævet til hver prøve og NC.
 - Reagensglasstrimler kan tilpasses til det ønskede antal reagensglas. Vælg antallet af individuelle 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas eller 8-reagensglasstrimler efter behov.
 - Placer 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas i en tom bakke.
 - Undgå at forstyrre reagenskuglerne på bunden af reagensglassene.
- Vælg ét 3M Reagens Kontrol reagensglas, og anbring det i holderen.
- For at undgå krydskontaminering åbnes én 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglasstrimmel ad gangen, og der bruges en ny pipettespids til hvert overførselstrin.



4. Overfør hvert lysat til et 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas og 3M Reagens Kontrol reagensglas som beskrevet nedenfor:

Overfør hvert prøvelysat til individuelle 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas **først**, efterfulgt af NC. Hydrer 3M Reagens Kontrol-reagensglasset **sidst**.

5. Brug 3M™ Molekylær Detektions Værktøj til Cap/Decap (lukning/åbning) - Reagens til at åbne 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas – én reagensglasstrimmel ad gangen. Kasser hættten.
- 5.1 Overfør 20 µl prøvelysat fra den øverste halvdel af væsken (undgå præcipitat) i 3M Lysinbehandlingsreagensglasset til et tilsvarende 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas. Doser med en skrå hældning for at undgå at forstyrre kuglerne. Bland forsigtigt ved at pipettere op og ned 5 gange.**
- 5.2 Gentag trin 5.1, til individuelt prøvelysat er blevet tilføjet til et tilsvarende 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas i strimlen.
- 5.3 Dæk 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglassene med det medfølgende ekstra låg og brug den runde side af 3M Molekylær Detektions Værktøj til Cap/Decap (lukning/åbning) - Reagens til at påføre tryk i en frem- og tilbagegående retning, og sørg for, at låget sidder fast.
- 5.4 Gentag trin 5.1 til 5.3 efter behov for det antal prøver, der skal testes.
- 5.5 Når alle prøvelysater er blevet overført, gentages trinene 5.1 til 5.3 for at overføre 20 µl NC-lysat til et 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas.
- 5.6 Overfør **20 µl NC-lysat** til et **3M Reagens Kontrol-reagensglas**. Doser med en skrå hældning for at undgå at forstyrre kuglerne. Bland forsigtigt ved at pipettere op og ned 5 gange.
6. Sæt reagensglassene med låg påsat i en ren og dekontamineret 3M Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning. Luk og lås derefter låget.



7. Gennemgå og bekræft den konfigurerede kørsel i 3M Molekylær Detektions softwaren.
8. Klik på startknappen i softwaren, og vælg det instrument, du vil bruge. Det valgte instruments låg åbnes automatisk.
9. Anbring 3M Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning i 3M Molekylær Detektions Instrument, og luk låget for at påbegynde analysen. Resultaterne fremkommer inden for 60 minutter, skønt positive resultater kan fremkomme hurtigere.
10. Når analysen er færdig, fjernes 3M Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning fra 3M Molekylær Detektions Instrument, og reagensglassene bortskaffes ved at lade dem ligge i blød i en 1-5 % (v:v i vand) husholdningsklorinopløsning i 1 time og på god afstand af analyseklargørelsesområdet.

BEMÆRK: For at minimere risikoen for falsk-positiver pga. krydskontaminering må reagensglas, der indeholder forstærket DNA, aldrig åbnes. Dette omfatter 3M Reagens Kontrol, 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) reagensglas og 3M Matrix Kontrol reagensglas. Læg altid forseglede reagensglas i blød i en 1-5 % (v:v i vand) husholdningsklorinopløsning i 1 time og på afstand af analyseforberedelsesområdet.

Resultater og fortolkning

En algoritme fortolker lyseffektkurven, der er et resultat af detektionen af nukleinsyreampifikation. Resultaterne bliver automatisk analyseret af softwaren og bliver farvekodet baseret på resultatet. Et positivt eller negativt resultat bliver fastslået ved at analysere et antal unikke kurveparametre. Formodede positive resultater bliver rapporteret i realtid, mens negative resultater og inspektionsresultater bliver vist, efter kørslen er gennemført.

Formodede positive prøver skal bekræftes ifølge sikkerhedspraksis for et standardlaboratorium eller ved at følge den relevante referencemetodebekræftelse^(1,2,3), der begynder med overførsel fra den primære BPW ISO-opformering til sekundær(e) opformeringbouillon(er) efterfulgt af udpladning og bekræftelse af isolater ved hjælp af passende biokemiske og serologiske metoder.



BEMÆRK: Selv en negativ prøve vil ikke give en nul aflæsning, idet systemet og 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) amplifikationsreagenser har en "baggrundsmæssig" aflæsning for relativ lysenhed (RLU).

I sjældne tilfælde af en usædvanlig lyseffekt vil algoritmemærkaterne kategorisere dette som Inspektion. 3M anbefaler brugeren at gentage analysen for alle inspektionsprøver. Hvis resultatet fortsat markeres til Inspektion, skal du fortsætte til bekræftelsestest ved brug af din foretrukne metode eller som specificeret i lokale forskrifter.

I tilfælde af uoverensstemmende resultater (formodede positive med 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7), som ikke er bekræftet med en af metoderne beskrevet ovenfor, og især for latexagglutineringsstesten), skal laboratoriet anvende den nødvendige procedure for at sikre valideringen af de opnåede resultater.

Bekræftelse af resultater ifølge NF VALIDATION-certificeret metode

Inden for rammerne af NF VALIDATION skal alle prøver, der er identificeret som positive med 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7), bekræftes med en af følgende test:

Mulighed 1: Brug af ISO 16654⁽³⁾-standarden fra opformeringen med bufferet peptonvand⁽³⁾.

Mulighed 2: Implementering af en bekræftelsesmetode bestående af følgende: Stryg 50 µl af opformeringen med bufferet peptonvand⁽³⁾ på en Cefixime Potassium Tellurite Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾ agarplade. Inkuber i 24 ± 3 timer ved 37°C. Stryg karakteristiske kolonier på næringsagar, og udfør en latexagglutineringsstest direkte på de isolerede kolonier. Hvis resultaterne af 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7) ikke bekræftes, udføres et immunmagnetisk trin, hvorefter der stryges 50 µl på CT-SMAC.

Mulighed 3: Brug af nukleinsyreprober som beskrevet i EN ISO 7218⁽⁵⁾-standarden udført på isolerede kolonier (renset eller urenset) fra CT-SMAC (se mulighed 1 eller 2). Nukleinsyreproberne skal være forskellige fra dem, der anvendes i 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7).

Mulighed 4: Brug af en anden NF VALIDATION-certificeret metode med et andet princip end 3M Molekylær Detektions Analyse 2 - *E. coli* O157 (inklusive H7). Den komplette protokol, der er beskrevet for denne anden validerede metode, skal anvendes. Alle trin før bekræftelsen startes skal være fælles for begge metoder.

I tilfælde af uoverensstemmende resultater (formodede positive med den alternative metode, som ikke er bekræftet med en af metoderne beskrevet ovenfor), skal laboratoriet anvende den nødvendige procedure for at sikre valideringen af det opnåede resultat.

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

Bilag A. Protokolafbrydelse: Opbevaring og gentagelse af prøven

1. Til opbevaring af varmebehandlet lysat påsættes en ren hætte på lysisreagensglasset (se afsnit 4.5 **Lysinbehandling**).
2. Hvis en opformeret prøve skal opbevares, skal den inkuberes i minimum 18 timer før opbevaring.
3. Opbevar ved 4-8°C i op til 72 timer.
4. Forbered en opbevaret prøve til amplifikation ved at vende den på hovedet 2-3 gange for at blande.
5. Tag lågene af reagensglassene.
6. Placer de blandede lysatreagensglas på 3M Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg, og varm op til 100 ± 1°C i 5 ± 1 minutter.
7. Fjern holderen med 3M LS-reagensglas fra varmeblokken, og lad den køle i 3M Molekylær Detektions Køleblok Indlæg i mindst 5 minutter og i højst 10 minutter.
8. Fortsæt protokollen i afsnittet **Amplifikation** som angivet ovenfor.

**Referencer:**

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Symbolforklaring

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Produktveiledning

Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7)

Produktbeskrivelse og tiltenkt bruk

3M™ Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) brukes sammen med 3M™ System for molekylær deteksjon for rask og spesifikk deteksjon av *E. coli* O157 (inkludert H7) i oppformerte mat- og fôrprøver.

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

3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) er ment for bruk i et laboratoriemiljø av fagpersoner med opplæring i laboratorieteknikker. 3M har ikke godkjent dette produktet for bruk i andre industrier enn mat og drikke. 3M har for eksempel ikke godkjent dette produktet for testing av miljø, farmasøytiske, kosmetiske og kliniske prøver eller veterinærprøver. 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) er ikke evaluert med alle mulige matprodukter, matprosesser, testprotokoller eller med alle mulige bakteriestammer.

Som for alle testmetoder kan kilden, formuleringen og kvaliteten til anrikningsmediet påvirke resultatene. Faktorer som prøveinnsamlingsmetoder, testprotokoller, prøveforberedelse, håndtering og laboratorieteknikk kan også påvirke resultatet. 3M anbefaler å evaluere metoden, inkludert anrikningsmediet, i brukerens miljø ved bruk av et tilstrekkelig antall prøver ved spesielle matutfordringer og mikrobielle utfordringer for å sikre at metoden oppfyller brukerens kriterier.

3M har evaluert 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) med Bufret Peptonvann ISO.

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

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

3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) testsett inneholder 96 tester, beskrevet i tabell 1.

Tabell 1. Komponenter i 3M Molekylært deteksjonskit

Artikkel	Beskrivelse	Mengde	Innhold	Kommentarer
3M™ Lyseringsoppløsning (LS)	Rosa oppløsning i gjennomsiktige rør	96 (12 rekker med 8 rør)	580 µL av 3M lyseringsoppløsning per rør	Plassert i stativ og klar til bruk
3M™ Molekylær deteksjonstest 2 for <i>E. coli</i> O157 (inkludert H7) reagensrør	Rosa rør	96 (12 rekker med 8 rør)	Lyofilisert spesifikk amplifikasjon og deteksjonsblanding	Klar til bruk
Ekstra lokk	Rosa lokk	96 (12 rekker med 8 lokk)		Klar til bruk
3M™ Reagenskontroll (RC)	Gjennomsiktige rør med vippelokk	16 (2 poser med 8 individuelle rør hver)	Lyofilisert kontroll-DNA, amplifikasjon og deteksjonsblanding	Klar til bruk
Hurtigstartguide		1		

Den negative kontrollen, som ikke følger med i kitet, er et sterilt anrikningsmedium, f.eks. BPW ISO. Ikke bruk vann som negativ kontroll.

Sikkerhet

Brukeren må lese, forstå og følge all informasjon om sikkerhet i instruksjonene for 3M System for molekylær deteksjon og 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7). Behold sikkerhetsveiledningen for fremtidig referanse.

⚠ ADVARSEL: Indikerer en farlig situasjon som, om den ikke unngås, kan resultere i død eller alvorlig personskade og/eller materielle skader.

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



▲ ADVARSEL

Ikke bruk 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) i diagnostisering av tilstander hos mennesker eller dyr.

Brukeren må gi opplæring i korrekte testteknikker til sitt personell: for eksempel Good Laboratory Practices, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ eller ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Følg protokollen og utfør testene akkurat slik de beskrives i produktveiledning.
- Bruk medium forvarmet til $41,5 \pm 1$ °C. Pass på at mediet ikke faller under inkubasjonstemperaturområdet mens prøven klargjøres.
- Oppbevar 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) som angitt på pakken og i produktveiledningen.
- Bruk alltid 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) før utløpsdatoen.
- Bruk 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) med miljøprøver for mat-, fôr- og matprosesser som er blitt validert internt eller av en tredjepart.
- Bruk 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) kun med overflater, desinfeksjonsmidler, protokoller og bakteriestammer som har blitt validert internt eller av en tredjepart.
- For en miljøprøve som inneholder nøytraliserende buffer (NB) med arylsulfonat-kompleks, skal du utføre en 1:2 fortykning før testing (1 del prøve i 1 del steril anrikningsbuljong). Et annet alternativ er å overføre 10 µL av den nøytraliserende bufferanrikningen inn i 3M lyseringsoppløsningsrørene. Prøvehåndteringsprodukter fra 3M™ som inkluderer 3M™ nøytraliserende buffer med arylsulfonatkompleks: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB og HS119510NB.

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

- Utfør patogentesting i et laboratorium som er korrekt utstyrt, under oppsyn av fagopplært personell. Inkubert anrikningsmedium og utstyr eller overflater som har vært i kontakt med inkubert anrikningsmedium, kan inneholde patogener på et nivå som kan innebære helserisiko for mennesker.
- Følg alltid standard praksis for laboratoriesikkerhet, inkludert bruk av egnet personlig verneutstyr og øyevern ved håndtering av reagensrør og kontaminerte prøver.
- Unngå kontakt med innholdet i anrikningsmediet og reagensrør etter amplifisering.
- Kast anrikede prøver og tilhørende kontaminert avfall i henhold til gjeldende lokale/regionale/nasjonale/industrielle standarder.
- Ikke overstig den anbefalte temperaturinnstillingen på varmeblokken.
- Ikke overstig den anbefalte oppvarmingstiden.
- Bruk et passende, kalibrert termometer til å kontrollere temperaturen på 3M™ Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon (f.eks. delvis nedsenket termometer eller digitalt termoelement-termometer, ikke et helt nedsenket termometer). Termometeret må plasseres på det angitte stedet på 3M Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon.

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

- Bruk alltid hansker (for å beskytte brukeren og forhindre innføring av nukleaser).

For å redusere risiko forbundet med eksponering for varme væsker:

- Ikke overstig den anbefalte temperaturinnstillingen på varmeblokken.
- Ikke overstig den anbefalte oppvarmingstiden.
- Bruk et passende, kalibrert termometer til å kontrollere temperaturen på 3M™ Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon (f.eks. delvis nedsenket termometer eller digitalt termoelement-termometer, ikke et helt nedsenket termometer). Termometeret må plasseres på det angitte stedet på 3M Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon.

MERKNAD

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

- Det anbefales å bruke pipettespisser med sterile, aerosolbarrierer (filter), av molekylærbiologi-karakter.
- Bruk en ny pipettespiss for hver prøveoverføring.
- Bruk god laboratoriepraksis til å overføre prøven fra anrikningen til lyseringsrøret. For å unngå kontaminering av pipetter kan brukeren velge å legge til et mellomtrinn under overføring. Brukeren kan for eksempel overføre hver anriket prøve til et sterilt rør.
- Dersom tilgjengelig, bør brukeren bruke en arbeidsstasjon for molekylær biologi som har en bakteriedrepende lampe.

For å redusere risikoene forbundet med falskt positivt resultat:

- Åpne aldri rørene etter amplifisering.
- Kast alltid de kontaminerte rørene ved å bløtlegge dem i en 1-5 % (volumandel i vann) oppløsning av husholdningsblekemiddel i 1 time og borte fra testens forberedelsesområde.

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

Hvis du har spørsmål om spesifikke bruksområder eller prosedyrer, kan du besøke vårt nettsted på www.3M.com/foodsafety eller ta kontakt med en lokal 3M-representant eller -forhandler.



Brukeransvar

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

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

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

Det er også brukerens ansvar å fastslå at alle prøvemethoder og resultater tilfredsstiller kundens og leverandørens krav.

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

For å hjelpe kunder med å evaluere metoden for forskjellige matmatriks, har 3M utviklet 3M™ Matrisekontrollsett for molekylær deteksjon. Bruk matrikskontroll (MC) ved behov for å avgjøre om matrikset har evne til å påvirke resultatene for 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7). Test flere prøver som representerer matrikset, dvs. prøver innhentet fra forskjellige opphav, i løpet av en hvilken som helst valideringsperiode når 3M-metoden brukes, ved testing av nye eller ukjente matriks, eller matriks som har gjennomgått endringer i råvaremateriale eller prosess.

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

Begrensning av garantier / begrensede rettigheter

MED MINDRE DET ER UTTRYKKELIG SKREVET I EN BEGRENSET GARANTI PÅ EN PRODUKTPAKNING, FRASKRIVER 3M SEG ALLE DIREKTE OG INDIREKTE GARANTIER, INKLUDERT MEN IKKE BEGRENSET TIL, ENHVER GARANTI OM SALGBARHET ELLER ANVENDELSE TIL ET BESTEMT FORMÅL. Hvis noe 3M Food Safety-produkt er defekt, vil 3M eller dets autoriserte distributør erstatte eller refundere produktets kjøpesum etter eget skjønn. Dette er dine ubetingede rettigheter. Du må straks varsle 3M innen seksti dager fra oppdagelsen av enhver mulig feil i et produkt og returnere dette produktet til 3M. Ring kundeservice (tlf 1-800-328-1671 i USA.) eller din offisielle 3M Food Safety-representant for et autoriseringsnummer for retur av produktet.

Begrensning av 3Ms ansvar

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

Oppbevaring og avhending

Oppbevar 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) ved 2-8 °C. Må ikke fryses. Hold kitet borte fra lys under oppbevaring. Etter at kitet er åpnet, skal folieposen undersøkes for skader. Må ikke brukes dersom posen er skadet. Etter åpning skal ubrukte reagensrør alltid oppbevares i den gjenlukkbare posen med tørkemiddelet inni, for å opprettholde stabiliteten til de lyofiliserte reagensene. Ikke oppbevar reforseglete poser ved 2-8 °C i mer enn 60 dager.

Ikke bruk 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) etter utløpsdatoen. Utløpsdato og partinummer er angitt på etiketten på utsiden av esken. Etter bruk kan rørene med anrikningsmediet og 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) inneholde potensielt patogent materiale. Når testingen er fullført, følger brukeren gjeldende industristandarder for kasting av kontaminert avfall. Se HMS-databladet for ytterligere informasjon og lokale forskrifter for avhending.

Bruksanvisning

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

Brukeren må fullføre opplæringen for operatører av 3M System for molekylær deteksjon, som beskrevet i dokumentet «Installasjonskvalifikasjon (IQ) / Driftskvalifikasjon (OQ) Protokoller og instruksjoner for 3M System for molekylær deteksjon»⁽⁷⁾.

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

Se avsnittet «Spesifikke veiledninger for validerte metoder» for spesifikke krav:

Tabell 3 for anrikningsprotokoller i henhold til AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

Tabell 4 for anrikningsprotokoller i henhold til NF Validation-sertifikat 3M 01/18-05/17

Prøveanriking

Tabell 2, 3 eller 4 viser veiledning for anrikningsprotokoller for mat. Det er brukerens ansvar å validere alternative prøveprotokoller eller fortynningsforhold for å sikre at testmetoden møter brukerens krav.

**Mat**

1. Forvarm BPW ISO anrikningsmedium til $41,5 \pm 1$ °C.
2. Kombiner anrikningsmediet og prøven aseptisk i henhold til tabell 2, 3 eller 4. For alt kjøtt og svært oppdelte prøver anbefales det å bruke filterposer.
3. Homogeniser alle matriksene grundig, unntatt løvtynne produkter og frukt, ved å blande, knuse eller blande for hånd i $2 \pm 0,2$ minutt. Inkuber ved $41,5 \pm 1$ °C i passende lang tid i henhold til tabell 2, 3 eller 4.

Tabell 2. Generelle anrikningsprotokoller

Prøvematriks ^(a)	Prøvestørrelse	Anrikningsbuljong volum (mL)	Anrikningstemperatur (± 1 °C)	Anrikningstid (timer)
Rått storfekjøtt inkludert kjøttdeig/finhakket kjøtt og pynt	325 g	975 BPW ISO (forvarmet)	41,5	10-18
Rått kjøtt, inkludert rått storfekjøtt, svin, fjærkre, lam og bison	25 g	225 BPW ISO (forvarmet)	41,5	8-18
Løvtynne produkter ^(b)	200 g	450 BPW ISO (forvarmet)	41,5	18-24
Annen mat inkludert frukt ^(b) , grønnsaker, frukt/grønnsaksjuice, friske urter, rå sjømat, rå egg, rå melk, kakedeig og prosessert kjøtt	25 g	225 BPW ISO (forvarmet)	41,5	18-24
Valnøtter eller nøtteblandinger som inneholder valnøtt (denne protokollen er egnet for andre nøtter inkludert pekannøtter, mandler, pistasjnøtter, cashewnøtter og kastanjer)	25 g	225 rekonstituert fettfri tørrmelk	41,5	18-24

(a) Frosne prøver skal stabiliseres til 4-8 °C før det tilsettes anrikningsbuljong.

(b) Løvtynne produkter og fruktprøver skal ristes forsiktig for hånd i 5 minutter. Ikke bland eller homogeniser.

Spesifikke veiledninger for validerte metoder**AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01**

I AOAC Official Method of AnalysisSM programmet ble 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) funnet å være en effektiv metode for deteksjon av *E. coli* O157:H7. Matriksene som ble testet i studien er vist i tabell 3.

Tabell 3. Anrikningsprotokoller som benytter forvarmet BPW ISO ved $41,5 \pm 1$ °C i henhold til AOAC® Official MethodsSM 2017.01

Prøvematriks	Prøvestørrelse	Anrikningsbuljong volum (mL)	Anrikningstid (timer)	Homogenisert
Rå kjøttdeig av storfe (73 % magert)	325 g	975	10-18	Manuelt for hånd eller ved å mose
Rå spinat i pose ^(a)	200 g	450	18-24	Ristes lett for hånd i 5 minutter, ikke homogeniser
Fersk rosenkål	25 g	225	18-24	Ristes lett for hånd i 5 minutter, ikke homogeniser
Frosne blåbær ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	Ristes lett for hånd i 5 minutter, ikke homogeniser

(a) Løvtynne produkter og fruktprøver skal ristes forsiktig for hånd i 5 minutter. Ikke bland eller homogeniser.

(b) Frosne prøver skal stabiliseres til 4-8 °C før det tilsettes anrikningsbuljong.



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

For mer informasjon om utløp av validitet, henvises det til NF VALIDATION-sertifikat tilgjengelig på nettstedet nevnt over.

NF VALIDATION Sertifisert metode i samsvar med ISO 16140-2⁽⁸⁾ sammenlignet med ISO 16654⁽³⁾

Omfang av godkjenningen: Rått storfekjøtt, rå meieriprodukter, rå frukt og grønnsaker

Prøveklargjøring: Prøver skal klargjøres i henhold til EN ISO 16654 og EN ISO 6887⁽⁶⁾

Programvareversjon: Se sertifikat

Tabell 4. Anrikningsprotokoller som benytter forvarmet BPW ISO ved $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ i henhold til NF VALIDATION sertifisert metode 3M 01/18-05/17

Protokoll	Prøvestørrelse	Anrikningsbuljong volum (mL)	Anrikningstemperatur ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Anrikningstid (timer)
Rå meieriprodukter, rå frukt og rå grønnsaker	25 g	225	41,5	18-24
Rått storfekjøtt	25 g	225	41,5	8-24

MERK:

- Prøver som er større enn 25 g er ikke blitt testet i NF VALIDATION studien.
- De anbefalte protokollavbrytelses-punktene er etter anrikning eller etter prøvelysing. Anrikningsbuljongen eller prøvelysingen kan oppbevares ved $2-8^\circ\text{C}$ i opptil 72 timer. Etter at anrikningsbuljongen tas ut fra oppbevaring, gjenopptas testingen fra trinn 1 i delen **Lysering**. Etter at prøvelysingen tas ut fra oppbevaring, gjenopptas testingen fra trinn 7 i delen **Lysering**. Lysatet kan også oppbevares ved -20°C .
- Korte anrikningsprotokoller er sensitive overfor inkubasjonsforhold og temperaturene som er angitt i protokollen må følges. Temperaturen på vannbadet eller inkubatoren hvor buljongene forvarmes skal verifiseres for å sikre at anrikningsbuljongen når nødvendig temperatur. Total tid for prøveklargjøring, inkludert forsinkelsen mellom slutten på forvarmingstrinnet for mediet og begynnelsen på inkubasjonen til matprøven, må ikke være lenger enn 45 minutter. Det anbefales å bruke en ventilert inkubator under inkubasjonen.

Klargjøring av 3M™ Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon

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

Klargjøring av 3M™ Kjøleblokkinnsett for molekylær deteksjon

Plasser 3M Kjøleblokkinnsett for molekylær deteksjon direkte på laboratoriebenken: 3M Brett til kjøleblokk for molekylær deteksjon er ubrukt. Bruk kjøleblokken ved laboratoriets romtemperatur ($20-25^\circ\text{C}$).

Klargjøring av 3M™ Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon

Plasser 3M Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon i en tørr, dobbelblokkvarmeeinheit. Slå på den tørre blokkvarmeeinheit og still inn temperaturen slik at 3M Varmeblokkinnsett for molekylær deteksjon når og opprettholder en temperatur på $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

MERK: Avhengig av varmeeenheten, skal 3M Varmeblokkinnsetts for molekylær deteksjon bruke omtrent 30 minutter på å nå temperaturen. Bruk et passende, kalibrert termometer (f.eks. et delvis nedsenket termometer eller et digitalt termoelement-termometer, ikke et helt nedsenket termometer) plassert på angitt sted og verifiser at 3M Varmeblokkinnsetts for molekylær deteksjon er ved 100 ± 1 °C.

Klargjøring av 3M™ Instrument for molekylær deteksjon

1. Start 3M™ molekylær deteksjon og logg inn. Kontakt 3M Food Safety-representanten for å få bekreftet at du har den nyeste versjonen av programvaren.
2. Slå på 3M Instrument for molekylær deteksjon.
3. Opprett eller endre en gjennomkjøring med data for hver prøve. Se brukerhåndboken for 3M™ System for molekylær deteksjon for mer informasjon.

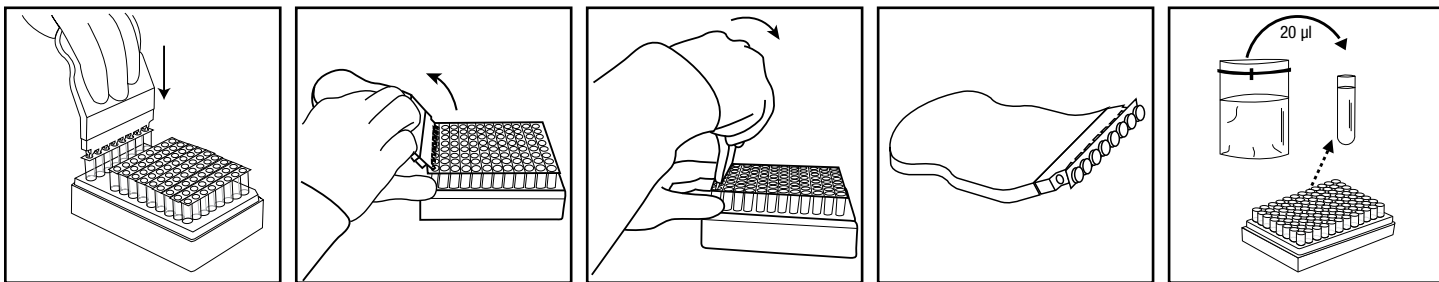
MERK: 3M Instrument for molekylær deteksjon må nå og opprettholde en temperatur på 60 °C før innsetting av 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon med reagensrør. Dette varmetrinnet tar omtrent 20 minutter og indikeres av et ORANSJE lys på instrumentets statuslinje. Når instrumentet er klart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

Lysering

1. La 3M lyseringsoppløsningsrørene varmes opp ved å sette stativet i romtemperatur (20-25 °C) over natten (16-18 timer). Alternativer til å stabilisere 3M lyseringsoppløsningsrørene til romtemperatur er å sette 3M lyseringsoppløsningsrørene på laboratoriebenken i minst 2 timer, inkubere 3M lyseringsoppløsningsrørene i en inkubator ved 37 ± 1 °C i 1 time, eller plassere dem i en tørr dobbelblokkvarmeeenhet i 30 sekunder ved 100 °C.
2. Vend rørene med hetten på for å blande. Fortsett til neste trinn innen 4 timer.
3. Fjern anrikingsbuljongen fra inkubatoren.
4. Ett 3M lyseringsoppløsningsrør kreves for hver prøve og Negativ kontroll (NC)-prøve (sterilt anrikingsmedium).
 - 4.1 Rekker med 3M lyseringsoppløsningsrør kan klippes til ønsket antall 3M lyseringsoppløsningsrør. Velg nødvendig antall enkeltstående 3M lyseringsoppløsningsrør eller rekker med 8 rør. Plasser 3M lyseringsoppløsningsrørene i et tomt stativ.
 - 4.2 For å unngå krysskontaminering skal kun én rekke med 3M lyseringsoppløsningsrør åpnes om gangen og en ny pipettespiss brukes for hvert overføringstrinn.
 - 4.3 Overfør anriket prøve til 3M lyseringsoppløsningsrørene som beskrevet under:

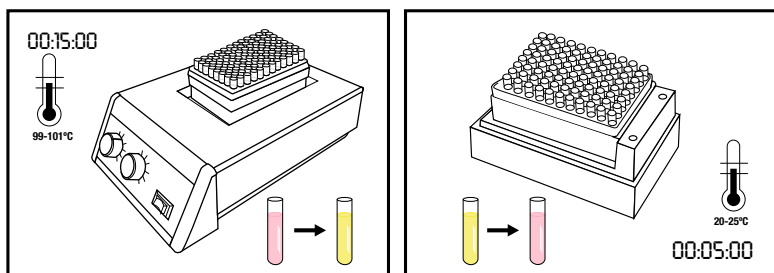
Overfør hver anriket prøve til enkeltstående 3M lyseringsoppløsningsrør **først**. Overfør NC-prøven **til slutt**.

- 4.4 Bruk 3M™ Verktøy for lukking/åpning av lyseringsrør for molekylær deteksjon for å åpne én rekke med 3M lyseringsoppløsningsrør - én rekke om gangen.
- 4.5 Kast lokket på 3M lyseringsoppløsningsrøret – dersom lysatet skal oppbevares for ny test, plasseres lokkene i en ren beholder for å sette dem på igjen etter lysering.
 - 4.5.1 Se vedlegg A for prosessering av tilbakeholdt lysat.
- 4.6 Overfør 20 µL med prøve til et 3M lyseringsoppløsningsrør, med mindre noe annet er indikert i protokolltabell 2, 3 og 4.



5. Gjenta trinn 4.3 til alle individuelle prøver er lagt til et korresponderende 3M lyseringsoppløsningsrør i rekken.
6. Gjenta trinn 4.1 til 4.6 som nødvendig, for det antall valgte prøver som skal testes.
7. Når alle prøvene er overført, overføres 20 µL av NC (sterilt anrikingsmedium, f.eks. BPW ISO) inn i et 3M lyseringsoppløsningsrør. Ikke bruk vann som NC.
8. Verifiser at 3M Varmeblokkinnsetts for molekylær deteksjon har en temperatur på 100 ± 1 °C.

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

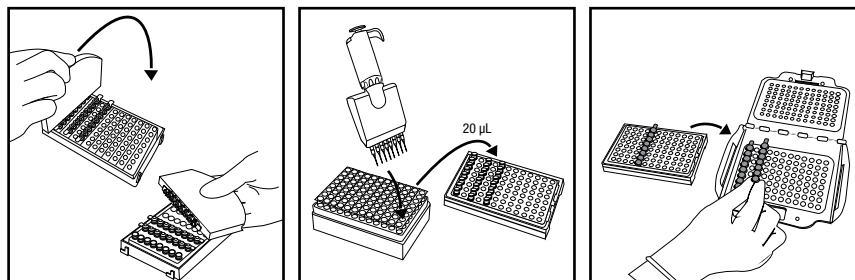


Amplifikasjon

1. En 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) Reagensrør er nødvendig for hver prøve og for NC.
 - 1.1 Rekker med rør kan klippes til ønsket antall rør. Velg nødvendig antall enkeltstående 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) Reagensrør eller rekker med 8 rør er nødvendig.
 - 1.2 Plasser 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) Reagensrør i et tomt stativ.
 - 1.3 Unngå å forstyrre reagenspelletene i bunnen av rørene.
2. Velg ett 3M Reagenskontroll-rør og plasser det i stativet.
3. For å unngå krysskontaminering, ta av lokket på én 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) reagensrørrekke om gangen, og bruk en ny pipettespiss for hver overføring.
4. Overfør lysat til en 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) reagensrør og 3M reagenskontrollrør som beskrevet nedenfor:

Overfør hvert prøvelysat til individuelt 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) Reagensrør **først** etterfulgt av NC. Hydrer 3M Reagenskontroll-røret **til slutt**.
5. Bruk 3M™ Verktøy for lukking/åpning av reagensrør for molekylær deteksjon for å åpne én rekke med reagensrør for 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) Reagensrør – én rørrekke om gangen. Kast lokket.
 - 5.1 **Overfør 20 µL av prøvelysatet fra den øverste halvdel av væsken (unngå presipitat) i 3M ly se ringsoppløsnings rø ret til korresponderende 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) reagensrør. Hold i vinkel under overføring for å unngå å forstyrre pelletene. Bland ved å bevege pipetten forsiktig opp og ned 5 ganger.**
 - 5.2 Gjenta trinn 5.1 til individuelt prøvelysat har blitt lagt til en korresponderende 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) Reagensrør i rekken.
 - 5.3 Dekk til reagensrørene for 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) med de medfølgende ekstra lokkene, og bruk den avrundede siden av 3M Verktøy for lukking/åpning av reagensrør for molekylær deteksjon til å presse i en fram-og-tilbake-bevegelse slik at lokket festes godt.
 - 5.4 Gjenta trinn 5.1 til 5.3 som nødvendig, for antall prøver som skal testes.
 - 5.5 Når alt prøvelysatet er overført, gjenta trinn 5.1 til 5.3 for å overføre 20 µL med NC-lysat inn i en 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) reagensrør.
 - 5.6 Overfør **20 µL med NC-lysat inn i et 3M Reagenskontroll-rør**. Hold i vinkel under overføring for å unngå å forstyrre pelletene. Bland ved å bevege pipetten forsiktig opp og ned 5 ganger.

6. Sett lukkede rør over i et rent og dekontaminert 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon. Lukk og lås lokket deretter.



7. Se igjennom og bekreft den konfigurerte gjennomkjøringen i programvaren for 3M Molekylær deteksjon.
8. Klikk på startknappen i programvaren og velg instrumentet som skal brukes. Det valgte instrumentets lokk åpnes automatisk.
9. Plasser 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon inn i 3M Instrument for molekylær deteksjon og lukk lokket for å starte testen. Resultatene er klare innen 60 minutter, mens positive resultat kan bli oppdaget raskere.
10. Etter at testen er fullført, fjern 3M Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon fra 3M Instrument for molekylær deteksjon og kvitt deg med rørene ved å senke dem i en 1-5 % (volumandel i vann) husholdningsblekemiddel i 1 time og borte fra testens forberedelsesområde.

MERKNAD: For å redusere risikoen for falske positive resultater på grunn av krysskontaminering skal aldri reagensrør som inneholder amplifisert DNA, åpnes. Dette omfatter 3M Reagenskontroll, 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) Reagensrør og 3M Matrisekontrollrør. Kasser alltid de forseglede reagensrørene ved å bløtlegge dem i 1-5 % (volumdel i vann) oppløsning av husholdningsblekemiddel i en 1 time og unna testens forberedelsesområde.

Resultater og tolkning

En algoritme tolker lyseffektskurven som er resultatet av deteksjonen av nukleinsyre-amplifikasjon. Resultatene analyseres automatisk av programvaren og er fargekodet basert på resultatet. Et positivt eller negativt resultat fastslås av analysen av flere unike kurveparametere. Antatt positive resultater rapporteres i sann tid, mens negative og «Inspect» (inspiser)-resultater vil vises etter at gjennomkjøringen er fullført.

Antatte positive prøver må bekreftes i henhold til laboratoriets standard operasjonsprosedyrer eller ved å følge den aktuelle referansemetoden for bekreftelse^(1,2,3), som begynner med overføring fra den primære BPW ISO anrikningen til sekundær anrikningsbuljong(er), etterfulgt av påfølgende plettering og bekreftelse av isolater ved hjelp av egnede biokjemiske og serologiske metoder.

MERK: Ikke engang en negativ prøve vil gi et null-resultat ettersom systemet og 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) har en «bakgrunns» relativ lysenhets (RLU).

I et sjeldent tilfelle av eventuelle uvanlige lyseffekter, merker algoritmen dette som «Inspect». 3M anbefaler brukeren å gjenta testen for alle «Inspect»-prøver. Dersom resultatet fortsatt er «Inspect», fortsett til bekreftelsestesten og bruk din foretrukne metode eller som oppgitt av lokale forskrifter.

I tilfelle forskjellige resultater (antatt positiv med 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7), ikke bekreftet av én av metodene beskrevet ovenfor, og spesielt for lateks agglutinasjon-testen), må laboratoriet følge de nødvendige trinnene for å sikre validitet til resultatene som er oppnådd.

Bekreftelse av resultatene i henhold til sertifiseringsmetoden NF VALIDATION

I konteksten til NF VALIDATION, må alle prøver som identifiseres som positive av 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7) bekreftes av en av de følgende testene:

Alternativ 1: Bruke ISO 16654⁽³⁾-standarden som starter fra den bufrede peptonvann⁽³⁾ anrikningen.

Alternativ 2: Implementere en bekreftelsesmetode som består av følgende: Stryk 50 µL av bufret peptonvann⁽³⁾-anrikningen i en Cefixime Potassium Tellurite Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾ agarplate. Inkuber i 24 ± 3 timer ved 37 °C. Stryk karakteristikkolonier på næringsagar og gjennomfør latex agglutinasjon-test direkte på de isolerte koloniene. Hvis 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7)-resultatene ikke er bekreftet, gjennomfør et immunomagnetisk separasjonstrinn og stryk deretter 50 µL på CT-SMAC.

Alternativ 3: Bruk av nukleinsyre-prober som beskrevet i EN ISO 7218⁽⁵⁾ standarden, utført på isolerte koloner (renset eller ikke) fra CT-SMAC (se alternativ 1 eller 2). Nukleinsyre-probene må være annerledes enn de som brukes i 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7).



Alternativ 4: Ved bruk av enhver annen metode sertifisert NF VALIDATION, må det være et annet prinsipp enn 3M Molekylær deteksjonstest 2 for *E. coli* O157 (inkludert H7). Hele protokollen som er beskrevet for denne andre validerte metoden må brukes. Alle trinnene før start av bekreftelse må være felles for begge metodene.

I tilfelle forskjellige resultater (antatt positiv med den alternative metoden, ikke bekreftet av én av metodene beskrevet ovenfor) må laboratoriet følge de nødvendige trinnene for å sikre validitet til resultatene som er oppnådd.

Hvis du har spørsmål om spesifikke bruksområder eller prosedyrer, kan du besøke vårt nettsted på www.3M.com/foodsafety eller ta kontakt med en lokal 3M-representant eller -forhandler.

Vedlegg A. Avbrytelse av protokoll: Oppbevaring og ny testing av prøvene

1. For å oppbevare et varmebehandlet lysat, sett lokket på lyseringsrøret igjen, bruk et rent lokk (se **Lysering** avsnitt, 4.5).
2. For å oppbevare en anrikt prøve, inkuber i minimum 18 timer før oppbevaring.
3. Oppbevar ved 4 til 8 °C i opptil 72 timer.
4. Bland en oppbevart prøve ved å vende den 2-3 ganger for å forberede den på amplifikasjon.
5. Åpne rørene.
6. Plasser de blandede lysatrørene på 3M Varmeblokkinnatts for molekylær deteksjon og varm ved 100 ± 1 °C i 5 ± 1 minutter.
7. Fjern stativet med 3M lyseringsoppløsningsrør fra varmeblokken og la det avkjøles i 3M Kjøleblokkinnatts for molekylær deteksjon i minst 5 minutter og maksimum 10 minutter.
8. Se delen **Amplifikasjon** beskrevet ovenfor for å fortsette protokollen.

Referanser:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Symbolforklaring

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Tuoteseloste

Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7)

Tuotteen kuvaus ja käyttötarkoitus

3M™ Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) on tarkoitettu käytettäväksi yhdessä 3M™ Molekyläärisen testijärjestelmän kanssa *E. coli* O157 (sisältäen H7) -bakteerien nopeaan ja täsmälliseen tunnistamiseen rikastetuista elintarvike- ja rehunäytteistä.

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

3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) on tarkoitettu laboratoriotekniikoihin koulutettujen ammattilaisten käytettäväksi laboratorioympäristössä. 3M ei ole osoittanut tuotetta käytettäväksi muilla kuin elintarvike- ja juomateollisuuden aloilla. 3M ei esimerkiksi ole osoittanut tuotetta ympäristö-, lääke- tai kosmetiikkänäytteiden testaamiseen eikä kliinisten tai eläinlääketieteellisten näytteiden testaamiseen. 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) ei ole arvioitu kaikkien mahdollisten elintarviketuotteiden, elintarvikeprosessien tai testauskäytäntöjen suhteen eikä kaikkien mahdollisten bakteerikantojen suhteen.

Kuten kaikkien testausmenetelmien tapauksessa, rikastusalustan lähde, koostumus ja laatu voivat vaikuttaa tuloksiin. Esimerkiksi näytteenottomenetelmät, testausprotokollat, näytteiden valmistelu, käsittely ja laboratoriotekniikka saattavat myös vaikuttaa tuloksiin. 3M suosittelee menetelmän sekä rikastusalustan arviointia käyttäjän ympäristössä käyttäen riittävän suurta näytemäärää ja tiettyjä elintarvikenäytteitä ja mikrobisisältöjä sen varmistamiseksi, että menetelmät vastaavat käyttäjän vaatimuksia.

3M on arvioinut 3M Molekyläärisen testisetin 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) puskuroidulla peptonivedellä ISO.

3M™ Molekyläärinen testi-instrumentti on tarkoitettu käytettäväksi sellaisten näytteiden kanssa, jotka on lämpökäsitelty testin lyysivaiheen aikana näytteessä olevien organismien tuhoamiseksi. Jos näytteitä ei ole asianmukaisesti lämpökäsitelty testin lyysivaiheen aikana, ne saattavat muodostaa biologisen vaaratekijän, jolloin niitä EI saa asettaa 3M Molekylääriseen testi-instrumenttiin.

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

3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) sisältää 96 testiä, jotka on kuvattu taulukossa 1.

Taulukko 1. 3M Molecular Detection Testipakkauksen osat

Nimike	Tunnusmerkki	Määrä	Sisältö	Kommentit
3M™ Lyysiliuos (LS)	Vaaleanpunainen liuos läpinäkyvissä putkissa	96 (12 kpl 8 putken liuskoja)	580 µl 3M-lyysiliuosta /putki	Telineessä ja käyttövalmis
3M Molekyläärinen testisetti 2 - <i>E. coli</i> O157 (sisältäen H7) -reagenssiputket	Vaaleanpunaiset putket	96 (12 kpl 8 putken liuskoja)	Lyofilisoitu spesifi monistus- ja tunnistusyhdistelmä	Käyttövalmis
Lisäsuojukset	Vaaleanpunaiset korkit	96 (12 kpl 8 suojuksen liuskoja)		Käyttövalmis
3M™ Reagenssin valvonta (RC)	Läpinäkyvät flip-top-putket	16 (2 pussia, joissa kummassakin 8 yksittäistä putkea)	Lyofilisoitu kontrolli-DNA, monistus- ja tunnistusyhdistelmä	Käyttövalmis
Pikaopas		1		

Negatiivinen kontrolli, jota ei toimiteta paketin mukana, on steriili rikastusalusta, esim. BPW ISO. Älä käytä vettä negatiivisena kontrollina.



Turvallisuus

Käyttäjän on luettava ja ymmärrettävä kaikki 3M Molekylääristä testijärjestelmää ja 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) koskevat turvallisuusohjeet ja noudatettava niitä. Säilytä turvallisuusohjeet myöhempää käyttöä varten.

VAROITUS: Osoittaa vaarallisen tilanteen, joka saattaa johtaa kuolemaan tai vakavaan loukkaantumiseen ja/tai omaisuusvahinkoon, jos tilannetta ei vältetä.

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

VAROITUS

Älä käytä 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) ihmisten tai eläinten diagnosointiin.

Käyttäjän on järjestettävä henkilökunnalleen koulutusta asianmukaisista testausmenetelmistä, joita ovat esimerkiksi: hyvät laboratoriokäytännöt, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ tai ISO 7218⁽⁵⁾.

Väärien negatiivisten tulosten vuoksi markkinoille voi päästä kontaminoituneita tuotteita. Voit vähentää tähän liittyvä riskiä toimimalla seuraavasti:

- Noudata käytäntöä ja tee testit täsmälleen tuoteselosteessa esitetyllä tavalla.
- Käytä $41,5 \pm 1$ °C:n lämpötilaan esilämmitettyä alustaa. Älä anna alustan lämpötilan laskea inkubointilämpötila-alueen alapuolelle näytteen valmistuksen aikana.
- Säilytä 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) pakkausmerkintöjen ja tuoteselosteen mukaan.
- Käytä 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) aina ennen viimeistä käyttöpäivää.
- Käytä 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) elintarvikenäytteille ja elintarvikevalmistuksen ympäristönäytteille, jotka on hyväksytty sisäisesti tai kolmannen osapuolen toimesta.
- Käytä 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) vain sellaisten pintojen, puhdistusaineiden, käytäntöjen ja bakteerikantojen kanssa, jotka on hyväksytty sisäisesti tai kolmannen osapuolen toimesta.
- Laimenna ympäristönäytteet, joissa käytetään aryyilisulfonaattikompleksia sisältävää neutraloivaa puskuria (NB), suhteessa 1:2 ennen testausta (1 osa näytettä 1 osaan steriiliä rikastusliuosta). Toinen vaihtoehto on siirtää 10 µl neutraloivaa puskuririkastusliuosta 3M-lyysiliuosputkiin. 3M™-näytteiden käsittelytuotteet, jotka sisältävät aryyilisulfonaattikompleksia sisältävää 3M™ neutraloivaa puskuria, ovat seuraavat: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB ja HS119510NB.

Kemikaaleille ja biologisille vaaratekijöille altistumiseen liittyvien riskien vähentäminen:

- Testaa taudinaiheuttajat asianmukaisesti varustetussa laboratorioissa koulutetun henkilöstön valvonnassa. Inkuboitu rikastusaine ja laitteet tai pinnat, jotka ovat joutuneet kosketuksiin inkuboidun rikastusaineen kanssa, saattavat sisältää taudinaiheuttajia määrän, joka riittää aiheuttamaan vaaran ihmisten terveydelle.
- Noudata aina laboratorioiden vakioturvallisuuskäytäntöjä, joihin kuuluu asianmukaisten suojavaatteiden ja silmäsuojainten käyttäminen reagensseja ja kontaminoituja näytteitä käsiteltäessä.
- Vältä kosketusta rikastusalustan ja reagenssiputkien sisällön kanssa monistuksen jälkeen.
- Hävitä rikastetut näytteet ja niihin liittyvä saastunut jäte voimassa olevien paikallisten, alueellisten tai kansallisten määräysten mukaisesti.
- Älä ylitä lämmityslaitteeseen merkittyä suositeltua lämpötila-asetusta.
- Älä ylitä suositeltua kuumennusaikaa.
- Tarkasta 3M™ Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeen lämpötila tarkoituksenmukaisella kalibroidulla lämpömittarilla (esim. osittain upotettavalla lämpömittarilla tai digitaalisella termoparimittarilla, ei kokonaan upotettavalla lämpömittarilla). Lämpömittari on asetettava sille määrättyyn paikkaan 3M Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeessa.

Testisetin valmistelun aikana tapahtuvaan ristikontaminaatioon liittyvien riskien vähentäminen:

- Käytä aina suojakäsineitä (käyttäjän suojaamiseksi ja nukleaaasien siirtymisen estämiseksi).

Jotta voit vähentää kuumille nesteille altistumisesta aiheutuvia riskejä, noudata seuraavia ohjeita:

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

HUOMAUTUS

Testisetin valmistelun aikana tapahtuvaan ristikontaminaatioon liittyvien riskien vähentäminen:

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

Vähennä vääriin positiivisiin tuloksiin liittyviä riskejä toimimalla seuraavasti:

- Älä avaa putkia monistuksen jälkeen.
- Hävitä kontaminoituneet putket aina liottamalla niitä 1–5-prosenttisessa (veteen laimennetussa) valkaisuaineliuoksessa 1 tunnin ajan etäällä testin valmistelualueelta.

Katso lisätietoja hävittämisestä ja paikallisista määräyksistä käyttöturvallisuustiedotteesta.

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

Käyttäjän vastuu

Käyttäjän vastuulla on tutustua tuoteselosteeseen ja -tietoihin. Lisätietoja saat verkkosivustolla osoitteesta www.3M.com/foodsafety tai ottamalla yhteyttä paikalliseen 3M-edustajaan tai -jälleenmyyjään.

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

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

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

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

Voidakseen auttaa erilaisten elintarvikematriisien arvioinnissa 3M on kehittänyt 3M™ Molekyläärisen testitaulukon valvontapakkauksen. Määritä tarvittaessa testitaulukon valvonnan avulla, vaikuttaako matriisi 3M Molekyläärisen testisetin 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) tuloksiin. Testaa validointivaiheiden aikana useita matriisia edustavia näytteitä, ts. eri lähteistä saatuja näytteitä, kun olet ottamassa käyttöön 3M-menetelmää tai kun olet testaamassa uusia tai tuntemattomia matriiseja tai matriiseja, joiden raaka-aineita tai valmistustapoja on muutettu.

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

Takuun rajoitus / rajoitettu korvausvelvollisuus

3M KIISTÄÄ KAIKKI NIMENOMAISET JA EPÄSUORAT TAKUUT, MUKAAN LUKIEN KAIKKI TAKUUT KÄYPYYDESTÄ TAI SOPIVUUDESTA TIETTYYN KÄYTTÖTARKOITUKSEEN, PAITSI JOS TUOTEPAKKAUKSEN TAKUUOSIOSSA TOISIN MAINITAAN. Jos mikä tahansa 3M Food Safety -tuote on viallinen, 3M tai sen valtuutettu jälleenmyyjä joko korvaa tuotteen tai palauttaa sen ostohinnan. Nämä ovat ainoat myönnetyt korvaukset. Käyttäjän on ilmoitettava 3M:lle viipymättä kuudenkymmenen päivän sisällä kaikista epäilyistä tuotevirheistä ja palautettava tuote 3M:lle. Pyydä palautusohjeet ottamalla yhteyttä asiakaspalveluun (1-800-328-1671, Yhdysvallat) tai viralliseen 3M Food Safety -edustajaasi.

3M:N vastuun rajoitukset

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

Säilytys ja hävittäminen

Säilytä 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) 2–8 °C:n lämpötilassa. Suojattava jäätymiseltä. Säilytä paketti valolta suojattuna. Kun olet avannut paketin, tarkista, että foliopussi on ehjä. Ei saa käyttää, jos pussi on vahingoittunut. Avaamisen jälkeen käyttämättömät reagenssiputket on aina säilytettävä uudelleensuljettavassa pussissa, jonka sisällä on kuivausainetta lyofilisoitujen reagenssien stabiliteetin ylläpitämiseksi. Säilytä uudelleensuljettuja pusseja 2–8 °C:n lämpötilassa enintään 60 päivän ajan.

Älä käytä 3M Molekylääristä testisettiä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Viimeinen käyttöpäiväys ja eränumero on merkitty pakkauksen ulkopuolelle. Käytön jälkeen rikastusalusta ja 3M Molekyläärisen testisetin 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) putket voivat sisältää mahdollisesti patogeenisiä aineita. Kun testi on suoritettu loppuun, noudata saastuneen jätteen hävittämisessä alan nykykäytäntöjä. Katso lisätietoja hävittämisestä ja paikallisista määräyksistä käyttöturvallisuustiedotteesta.

Käyttöohjeet

Noudata huolellisesti kaikkia ohjeita. Jos ohjeita ei noudateta, tulokset saattavat olla epätarkkoja.

Käyttäjän on suoritettava 3M Molekyläärisen testijärjestelmän käyttäjäkoulutus, kuten asiakirjassa ”Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for 3M Molecular Detection System”⁽⁷⁾ kuvataan.

Steriloi laboratorion työtasot ja välineet (pipetit, sulk- ja avaustyökalut jne.) säännöllisesti 1–5-tilavuusprosenttisella (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuaineliuoksella tai DNA:n poistoliuoksella.

Katso erityisvaatimukset kohdasta Erikoisohjeet validoituja menetelmiä varten.

Taulukko 3 sisältää rikastusmenetelmät seuraavien mukaisesti: AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

Taulukko 4 sisältää NF Validation -sertifikaatin 3M 01/18-05/17 mukaisen rikastuskäytännön

Näytteiden rikastus

Taulukoissa 2, 3 tai 4 on nykyiset rikastuskäytäntöjen ohjeet elintarvikkeille. Käyttäjän vastuulla on vahvistaa vaihtoehtoisten näytteenotokäytäntöjen ja laimennussuhteiden soveltuvuus sen varmistamiseksi, että testimenetelmä vastaa käyttäjän kriteereitä.

Elintarvikkeet

1. Esilämmitä BPW ISO -rikastusalusta 41,5 ± 1 °C:n lämpötilaan.
2. Yhdistä rikastusalusta ja näyte aseptisesti taulukoiden 2, 3 tai 4 mukaisesti. Kaikkien lihanäytteiden ja erittäin hiukkaspitoisten näytteiden yhteydessä suositellaan käyttämään suodatinpusseja.
3. Homogenoi kaikki matriisit paitsi lehtevät tuotteet ja hedelmät sekoittamalla, vatsasekoituksella tai käsin sekoittamalla 2 ± 0,2 minuuttia. Inkuboi 41,5 ± 1 °C:ssa asianmukaisen ajan taulukoiden 2, 3 tai 4 mukaisesti.

Taulukko 2. Yleiset rikastuskäytännöt

Näytematriisi ^(a)	Näytteen koko	Rikastusliemen tilavuus (ml)	Rikastuslämpötila (± 1 °C)	Rikastusaika (h)
Raaka naudanliha, myös jauheliha/hakattu liha, liha josta rasva on poistettu	325 g	975 BPW ISO (esilämmitetty)	41,5	10–18
Raaka liha sisältää raa’an naudan-, porsaan-, siipikarjan-, lampaan- ja biisoninlihan	25 g	225 BPW ISO (esilämmitetty)	41,5	8–18
Lehtimäiset tuotteet ^(b)	200 g	450 BPW ISO (esilämmitetty)	41,5	18–24
Muut elintarvikkeet, kuten hedelmät ^(b) , vihannekset, hedelmä-/vihannesmehut, tuoreet yrtit, raa’at kalat ja äyriäiset, raa’at kananmunat, raakamaito, pikkuleipätaikinat ja lihajalosteet	25 g	225 BPW ISO (esilämmitetty)	41,5	18–24



Saksanpähkinät tai saksanpähkinöitä sisältävät pähkinäseokset (tämä käytäntö soveltuu muille pähkinöille, kuten pekaanipähkinöille, manteleilla, pistaasi- ja cashewpähkinöille sekä kastanjoille)	25 g	225 ennastettu rasvaton kuivamaito	41,5	18–24
--	------	------------------------------------	------	-------

- (a) Pakastettujen näytteiden on annettava tasaantua 4–8 °C:n lämpötilaan ennen lisäämistä rikastusliemeen.
 (b) Lehtimäisten tuotteiden ja hedelmien näytteitä on sekoitettava hellävaroen käsin 5 minuuttia. Älä käsittele tehosekoittimella tai vatsakäsittelyllä.

Erikoisohjeet validoituja menetelmiä varten

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

AOAC Official Method of AnalysisSM -ohjelmassa 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) todettiin tehokkaaksi menetelmäksi *E. coli* O157:H7:n osoittamisessa. Tutkimuksessa testatut matriisit näkyvät taulukossa 3.

Taulukko 3. Rikastuskäytännöt käyttäen 41,5 ± 1 °C:n lämpötilaan esilämmitettyä BPW ISO -rikastusliuosta asiakirjan AOAC® Official MethodsSM 2017.01 mukaisesti

Näytematriisi	Näytteen koko	Rikastusliemen tilavuus (ml)	Rikastusaika (h)	Homogenisointi
Raaka naudanjauheliha (73 % vähärasvainen)	325 g	975	10–18	Käsin tai vatsakäsittely
Raaka pussitettu pinaatti ^(a)	200 g	450	18–24	Sekoitus hellävaroen käsin 5 minuuttia, älä homogenoi
Tuoreet idut	25 g	225	18–24	Sekoitus hellävaroen käsin 5 minuuttia, älä homogenoi
Pakastetut mustikat ^{(a)(b)}	25 g	225	18–24	Sekoitus hellävaroen käsin 5 minuuttia, älä homogenoi

- (a) Lehtimäisten tuotteiden ja hedelmien näytteitä on sekoitettava hellävaroen käsin 5 minuuttia. Älä käsittele tehosekoittimella tai vatsakäsittelyllä.
 (b) Pakastettujen näytteiden on annettava tasaantua 4–8 °C:n lämpötilaan ennen lisäämistä rikastusliemeen.

AFNOR Certificationin myöntämä NF Validation -sertifikaatti



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Lisätietoja validointiajan päättymisestä on NF VALIDATION -sertifikaatissa, joka on saatavissa edellä mainitulta verkkosivustolta.

NF Validation -sertifioitu ISO 16140-2⁽⁸⁾ -standardin mukainen menetelmä verrattuna ISO 16654⁽³⁾ -standardiin

Validoinnin soveltamisala: Raaka naudanliha, raa'at maitotuotteet, raa'at hedelmät ja vihannekset

Näytteiden valmistaminen: Näytteiden valmistamisessa on noudatettava standardeja EN ISO 16654 ja EN ISO 6887⁽⁶⁾

Ohjelmistoversio: Katso sertifikaatista



Taulukko 4. Rikastuskäytännöt käyttäen $41,5 \pm 1 \text{ °C}$:n lämpötilaan esilämmitettyä BPW ISO -rikastusliuosta NF VALIDATION -sertifioidun menetelmän 3M 01/18-05/17 mukaisesti

Käytäntö	Näytteen koko	Rikastusliemen tilavuus (ml)	Rikastuslämpötila ($\pm 1 \text{ °C}$)	Rikastusaika (h)
Raa'at maitotuotteet, raa'at hedelmät ja raa'at vihannekset	25 g	225	41,5	18–24
Raaka naudanliha	25 g	225	41,5	8–24

HUOMAUTUKSIA:

- Yli 25 g:n näytteitä ei ole testattu NF VALIDATION -tutkimuksessa.
- Käytännön suositellut keskeytyspisteet ovat rikastamisen jälkeen tai näytteen lyysin jälkeen. Rikastuslientä tai näytelysaattia voidaan säilyttää $2-8 \text{ °C}$:ssa enintään 72 tuntia. Kun rikastusliemi on ollut säilöttyä ja otetaan käyttöön, aloita testaus uudelleen **Lyysi**-osion vaiheesta 1. Kun näytelysaatti on ollut varastoituna ja otetaan käyttöön, jatka testausta **Lyysi**-osion vaiheesta 7. Lysaattia voidaan säilyttää myös -20 °C :ssa.
- Lyhyet rikastuskäytännöt ovat herkkiä inkubointiolosuhteille, joten käytännössä mainittuja lämpötiloja on noudatettava. Vesihautteen tai liemien esilämmitykseen käytettävän inkubaattorin lämpötila on varmistettava, jotta rikastusliuos saavuttaa varmasti vaaditun lämpötilan. Näytteiden valmistamiseen kuluva kokonaisaika, johon sisältyy myös viive rikastusliuoksen esilämmitysvaiheen lopusta elintarvikenäytteen inkuboinnin alkuun, ei saa ylittää 45:tä minuuttia. Inkuboinnissa suositellaan käyttämään tuuletettua inkubaattoria.

3M™ Molekyläärin testinopeuden latausalustan valmistelu

1. Kostuta liina tai kertakäyttöinen liina 1–5-tilavuusprosenttisella (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuliuksella ja pyyhi 3M Molekyläärin testinopeuden latausalusta.
2. Huuhtelee 3M Molekyläärin testinopeuden latausalusta vedellä.
3. Pyyhi 3M Molekyläärin testinopeuden latausalusta kuivaksi kertakäyttöisellä liinalla.
4. Varmista ennen käyttöä, että 3M Molekyläärin testinopeuden latausalusta on kuiva.

3M™ Molekyläärin testijäähdytyslohkon pistokkeen valmistelu

Aseta 3M Molekyläärin testijäähdytyslohkon pistoke suoraan laboratorion työtasolle: 3M Molekyläärin testijäähdytyslohkon alustaa ei käytetä. Käytä lohkoa laboratorion ilman lämpötilassa ($20-25 \text{ °C}$).

3M™ Molekyläärin testilämpölohkon pistokkeen valmistelu

Aseta 3M Molekyläärin testilämpölohkon pistoke kaksilohkoiseen kuivalämmityslaitteeseen. Kytke kuivalohkolämmitin päälle, aseta lämpötila ja anna 3M Molekyläärin testilämpölohkon pistokkeen lämmetä $100 \pm 1 \text{ °C}$:n lämpötilaan niin, että saavutettu lämpötila pysyy samana.

HUOMAUTUS: Anna 3M Molekyläärin testilämpölohkon pistokkeen lämmetä asetustilassa noin 30 minuuttia lämmityslaitteen mukaan. Varmista tarkoituksenmukaisen kalibroidun lämpömittarin avulla (esim. osittain upotettava lämpömittari tai digitaalinen termoparimittari, ei kokonaan upotettava lämpömittari), joka on asetettu sille määrättyyn paikkaan, että 3M Molekyläärin testilämpölohkon pistokkeen lämpötila on $100 \pm 1 \text{ °C}$.

3M™ Molekyläärin testi-instrumentin valmistelu

1. Käynnistä 3M™ Molekyläärin testijärjestelmän ohjelmisto ja kirjaudu sisään. Varmista 3M Food Safety -edustajaltasi, että käytössäsi on ohjelmiston uusin versio.
2. Kytke 3M Molekyläärin testi-instrumentti päälle.
3. Luo tai muokkaa ajo kunkin näytteen tiedoille. Katso tarkemmat tiedot 3M™ Molekyläärin testijärjestelmän käyttöoppaasta.

HUOMAUTUS: 3M Molekyläärin testi-instrumentin on lämmitettävä 60 °C :n lämpötilaan niin, että saavutettu lämpötila pysyy samana, ennen 3M Molekyläärin testinopeuden latausalustan ja reaktioputkien asettamista laitteeseen. Lämmitysvaihe kestää noin 20 minuuttia, ja sen merkiksi instrumentin tilarivillä palaa ORANSSI valo. Kun instrumentti on valmis ajon käynnistämistä varten, tilarivin valo muuttuu VIHREÄKSI.

Lyysi

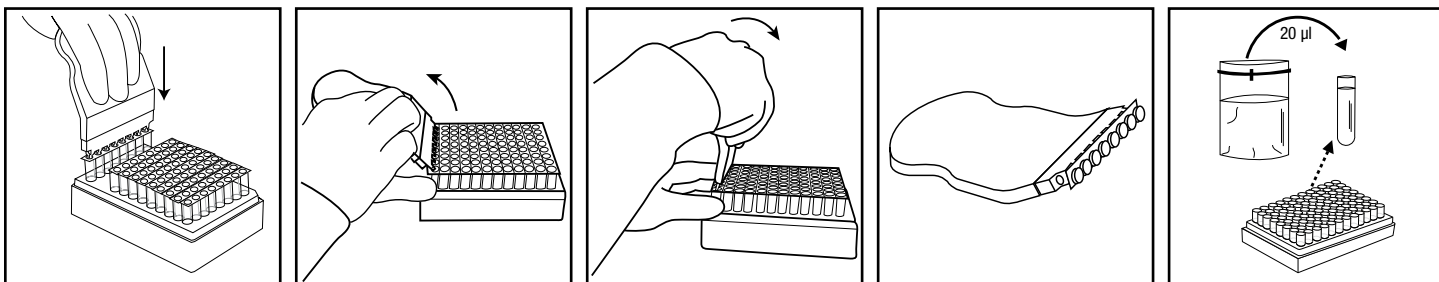
1. Anna 3M Lyysiliuosputkien lämmitä jättämällä teline huoneenlämpöön ($20-25 \text{ °C}$) yön yli (16–18 tunnin ajaksi). 3M Lyysiliuosputket voi lämmittää huoneenlämpöön myös asettamalla ne laboratorion työtasolle vähintään 2 tunniksi, inkuboimalla 3M Lyysiliuosputkia inkubaattorissa $37 \pm 1 \text{ °C}$:ssa 1 tunnin ajan tai asettamalla 3M Lyysiliuosputket kaksilohkoiseen kuivalämmittimeen 100 °C :n lämpötilaan 30 sekunniksi.



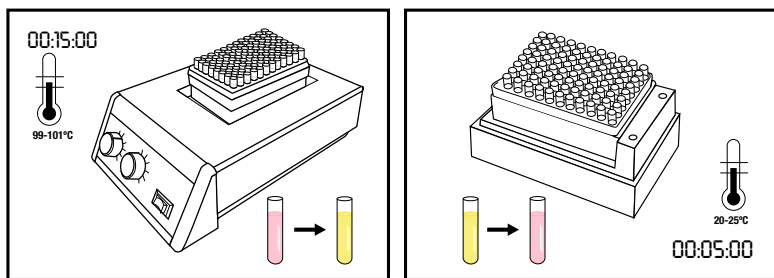
2. Sekoita suljetut putket kääntämällä ne ylösalaisin. Siirry seuraavaan vaiheeseen 4 tunnin kuluessa.
3. Poista rikastusliemi inkubaattorista.
4. Jokaiselle näytteelle ja negatiiviselle kontrollinäytteelle (NC) (steriili rikastusaine) tarvitaan yksi 3M Lyysiliuosputki.
 - 4.1 3M Lyysiliuos-putkiliuskat voidaan leikata haluttuun 3M Lyysiliuoksen putkimäärään. Valitse tarvittava yksittäisten 3M Lyysiliuosputkien tai 8 putken liuskojen määrä. Aseta 3M Lyysiliuosputket tyhjiin telineeseen.
 - 4.2 Ristikontaminaation välttämiseksi poista suojus yhdestä 3M Lyysiliuosputkiliuskasta kerrallaan ja käytä jokaiseen siirtovaiheeseen uutta pipettiä.
 - 4.3 Siirrä rikastettu näyte 3M Lyysiliuosputkiin seuraavien ohjeiden mukaisesti:

Siirrä jokainen rikastettu näyte **ensin** erilliseen 3M Lyysiliuosputkeen. Siirrä negatiivinen kontrolli (NC) **viimeiseksi**.

- 4.4 Käytä 3M™ Molekyläärisen testin cap/decap-työkalua – Lysis yhden 3M Lyysiliuosputkiliuskan avaamiseen – yksi liuska kerrallaan.
- 4.5 Heitä 3M Lyysiliuosputken suojus pois- jos lysaatti säilytetään uudelleentestausta varten, laita suojuukset puhtaaseen astiaan lysyin jälkeistä uudelleenkäyttöä varten.
 - 4.5.1 Säilytetyn lysaatin käsittelyyn liittyvät ohjeet ovat liitteessä A.
- 4.6 Siirrä 20 µl näytettä 3M Lyysiliuosputkeen, jollei näytteenottokäytäntötaulukoissa 2, 3 ja 4 muuta mainita.



5. Toista vaihe 4.3, kunnes kukin yksittäinen näyte on lisätty vastaavaan 3M Lyysiliuosputkeen liuskassa.
6. Toista tarvittaessa vaiheet 4.1–4.6 testattavien näytteiden määrän mukaan.
7. Kun kaikki näytteet on siirretty, siirrä 20 µl negatiivista kontrollia (steriiliä rikastusainetta, esim. puskuroitua peptonivettä, BPW ISO) 3M Lyysiliuosputkeen. Älä käytä vettä negatiivisena kontrollina.
8. Varmista, että 3M Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeen lämpötila on 100 ± 1 °C.
9. Aseta peittämätön 3M Lyysiliuosputkiteline 3M Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeeseen ja kuumenna 15 ± 1 minuuttia. Kuumennuksen aikana 3M Lyysiliuoksen väri muuttuu vaaleanpunaisesta (viileä) keltaiseksi (kuuma).
Jos näytteitä ei ole asianmukaisesti lämpökäsitelty testin lysivaiheen aikana, ne saattavat muodostaa biologisen vaaratekijän, jolloin niitä EI saa asettaa 3M Molekylääriseen testi-instrumenttiin.
10. Poista peittämätön 3M Lyysiliuosputkiteline lämmityslohkosta ja anna sen viilentyä 3M Molekyläärisen testijäähdytyslohkon pistokkeessa vähintään 5 minuuttia ja enintään 10 minuuttia. 3M Molekyläärisen testijäähdytyslohkon pistoke, jota käytetään ympäristön lämpöisenä ilman 3M Molekyläärisen testijäähdytyslohkon alustaa, asetetaan suoraan laboratorion työtasolle. Viileänä lysiliuoksen väri palaa vaaleanpunaiseksi.
11. Poista 3M Lyysiliuosputkiteline 3M Molekyläärisen testijäähdytyslohkon pistokkeesta.

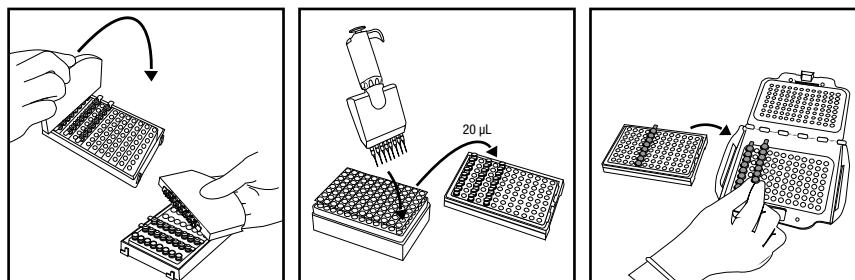


Monistaminen

- Jokaiselle näytteelle ja negatiiviselle kontrollinäytteelle tarvitaan yksi 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputki.
 - Putkiliuskat voidaan leikata haluttuun määrään putkia. Valitse tarvittava yksittäisten 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputkien tai 8 putken liuskojen määrä.
 - Aseta 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputket tyhjiin telineeseen.
 - Vältä liikuttamasta reagenssipellettejä putkien pohjalta.
- Valitse yksi 3M Reagenssin valvontaputki ja aseta telineeseen.
- Ristikontaminaation välttämiseksi poista suojus yhdestä 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputkinauhasta kerrallaan ja käytä uutta pipetin kärkeä jokaisessa siirtovaiheessa.
- Siirrä jokainen lyaatti 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputkeen ja 3M Reagenssin valvontaputkeen seuraavasti:

Siirrä jokainen näytelysaatti yksittäiseen 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputkeen ensin ja sitten negatiivinen kontrolli. Hydratoi 3M Reagenssin valvontaputki viimeisenä.

- Avaa 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputki käyttämällä 3M™ Molekyläärisen testin cap/decap-työkälyä - Reagenssi – yksi putkiliuska kerrallaan. Heitä suojus pois.
 - Siirrä 20 µl näytelysaattia 3M Lyysiliuosputkessa olevan nesteen ylemmästä puoliskosta (vältä sakkaa) vastaavaan 3M Molekylääriseen testisettiin 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputkeen. Annostelee vinossa kulmassa, jotta et liikuta pellettejä. Sekoita pipetoimalla varovasti ylös ja alas 5 kertaa.
 - Toista vaihe 5.1, kunnes kaikki yksittäiset näytelysaatit on lisätty vastaavaan 3M Molekylääriseen testisettiin 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputkeen liuskassa.
 - Peitä 3M Molekyläärisen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputket mukana toimitetuilla lisäsuojuksilla ja varmista, että ne ovat tiukasti paikoillaan painamalla niitä 3M Molekyläärisen testin cap/decap-työkälyn - Reagenssi pyöristettyllä puolella eteen- ja taaksepäin suuntautuvalla liikkeellä.
 - Toista tarvittaessa vaiheet 5.1–5.3 testattavien näytteiden määrän mukaan.
 - Kun kaikki näytelysaatit on siirretty, siirrä 20 µl negatiivista kontrollilysaattia 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputkeen toistamalla vaiheet 5.1–5.3.
 - Siirrä 20 µl negatiivista kontrollilysaattia 3M Reagenssin valvontaputkeen. Annostelee vinossa kulmassa, jotta et liikuta pellettejä. Sekoita pipetoimalla varovasti ylös ja alas 5 kertaa.
- Aseta suojuksella suljetut putket puhtaaseen ja steriloituun 3M Molekyläärisen testinopeuden latausalustaan. Sulje ja lukitse kansi sen jälkeen.



- Tarkasta ja vahvista määritetty ajo 3M Molekyläärisen testijärjestelmän ohjelmistossa.
- Napsauta ohjelmiston Start (Käynnistä) -painiketta ja valitse käytettävä instrumentti. Valitun instrumentin kansi aukeaa automaattisesti.



9. Aseta 3M Molekyläärin testinopeuden latausalusta 3M Molekylääriseen testi-instrumenttiin ja aloita testi sulkemalla kansi. Saat tulokset 60 minuutin kuluessa, positiiviset tulokset saatetaan kuitenkin havaita jo aikaisemmin.
10. Kun testi on suoritettu loppuun, ota 3M Molekyläärin testinopeuden latausalusta 3M Molekyläärisestä testi-instrumentista ja hävitä putket liottamalla niitä 1–5-prosenttisessa (veteen laimennetussa) talouskäyttöisessä valkaisuaineliuoksessa 1 tunnin ajan ja etäällä testin valmistelualueelta.

HUOMAUTUS: Jotta ristikontaminaation aiheuttamien väärin positiivisten riski olisi mahdollisimman pieni, älä koskaan avaa monistettua DNA:ta sisältäviä reagenssiputkia. Tämä koskee 3M Reagenssin valvontaa, 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -reagenssiputkea ja 3M Testitaulukon valvontaputkia. Hävitä tiiviisti suljetut reagenssiputket aina liottamalla niitä 1–5 tilavuusprosenttisella (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuaineliuoksella 1 tunnin ajan ja etäällä testin valmistelualueelta.

Tulokset ja tulkinta

Algoritmi tulkitsee nukleiinihappojen monistuksen tunnistuksesta saatavaa valon sirontakäyrää. Ohjelmisto analysoi tulokset automaattisesti, ja tulokset värikoodataan tuloksen mukaan. Positiivinen tai negatiivinen tulos määritetään analysoimalla useita yksilöllisiä käyräparametreja. Oletetut positiiviset tulokset ilmoitetaan reaaliaikaisesti, kun taas negatiiviset ja tarkastettavat tulokset näytetään ajon valmistumisen jälkeen.

Oletetut positiiviset näytteet on vahvistettava laboratorion vakioimintamenetelmien mukaisesti tai noudattamalla asianmukaista vertailumenetelmää^(1,2,3) aloittamalla näytteen siirrosta ensisijaisesta BPW ISO -rikastusliemestä toissijaiseen rikastusliemeen/-liemiin, mitä seuraa siirrostus ja isolaattien vahvistaminen asianmukaisilla biokemiallisilla ja serologisilla menetelmillä.

HUOMAUTUS: Negatiivinen näyte ei anna nollalukemaa, sillä järjestelmällä ja 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) monistusreagensseilla on tausta-RLU-lukema (suhteellinen valoyksikkö).

Joissain harvoissa tapauksissa valon sironta voi olla epätavallinen, jolloin algoritmi merkitsee sen tarkastettavaksi. 3M suosittelee testin uusimista tarkastettavaksi merkittyjen näytteiden osalta. Jos tulokseksi tulee jatkuvasti Inspect, tee varmistustesti käyttämällä itse parhaaksi katsomaasi menetelmää tai paikallisten määräysten mukaista menetelmää.

Jos tulokset ovat ristiriitaisia (oletettu positiivinen tulos 3M Molekyläärinen testisetti 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7), jota ei saada vahvistettua jollakin edellä kuvatuista tavoista, erityisesti lateksiagglutinaatiokoe), laboratorion on tehtävä tarvittavat toimenpiteet saatujen tulosten validoimiseksi.

Tulosten vahvistaminen NF VALIDATION -sertifioitujen menetelmien mukaisesti

NF VALIDATIONin yhteydessä kaikki 3M Molekyläärisellä testisettillä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) määritetyt positiiviset näytteet tulee vahvistaa jollain seuraavista testeistä:

Vaihtoehto 1: Käyttämällä ISO 16654⁽³⁾ -standardia aloittaen puskuroidulla peptonivedellä⁽³⁾ rikastamisesta.

Vaihtoehto 2: Soveltamalla seuraavista vaiheista koostuvaa vahvistusmenetelmää: Siirrä 50 µl puskuroitua peptonivettä⁽³⁾ sisältävää rikastusliuosta Kefiksiimi-kaliumtelluriitti-sorbitoli-MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾ -agarlevylle. Inkuboi 24 ± 3 tunnin ajan 37 °C:ssa. Siirrä tunnusomaiset pesäkkeet ravinneagarille ja tee lateksiagglutinaatiokoe suoraan eristetyille pesäkkeille. Jolleivät 3M Molekyläärin testisettin 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) -tulokset vahvistu, tee immunogeneettinen erottaminen ja siirrä 50 µl CT-SMAC-levylle.

Vaihtoehto 3: Käyttämällä EN ISO 7218⁽⁵⁾-standardissa kuvattuja DNA-koettimia CT-SMAC-levyltä eristettyihin (puhdistettuihin tai puhdistamattomiin) pesäkkeisiin (katso vaihtoehdot 1 tai 2). DNA-koettimien on oltava erilaisia kuin 3M Molekyläärisessä testisettissä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7) käytetyt koettimet.

Vaihtoehto 4: Käyttämällä jotain muuta NF VALIDATION -sertifioitua menetelmää, jonka periaatteen on oltava erilainen kuin 3M Molekyläärisessä testisettissä 2 - *E. coli* O157 (sisältäen H7). On käytettävä tälle toiselle validoidulle menetelmälle kuvattua koko käytäntöä. Kaikkien vahvistamisen alkua edeltävien vaiheiden on oltava kummallekin menetelmälle yhteisiä.

Jos tulokset ovat ristiriitaisia (vaihtoehtoisella menetelmällä saatu oletettu positiivinen tulos, jota ei saada vahvistettua jollakin edellä kuvatuista tavoista), laboratorion on tehtävä tarvittavat toimenpiteet saadun tuloksen validoimiseksi.

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

Liite A. Käytännön keskeystys: Näytteiden säilyttäminen ja uudelleentestaus

1. Säilytä lämpökäsitelty lysaatti sulkemalla lysiputki uudelleen puhtaalla suojuksella (katso **Lyysi**-osio, 4.5).



2. Rikastettua näytettä on inkuboitava vähintään 18 tuntia ennen sen säilyttämistä.
3. Säilytä 4–8 °C:ssa enintään 72 tuntia.
4. Valmistele säilytetty näyte monistamista varten kääntelemällä sitä 2–3 kertaa, jotta se sekoittuu.
5. Poista suojukset putkista.
6. Aseta sekoitetut lyysiputket 3M Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeeseen ja kuumenna 100 ± 1 °C:ssa 5 ± 1 minuuttia.
7. Poista 3M Lyyssiulosputkeline lämmityslohkosta ja anna sen viilentyä 3M Molekyläärisen testijäähdytyslohkon pistokkeessa vähintään 5 minuuttia ja enintään 10 minuuttia.
8. Jatka edellä olevasta kohdasta **Monistaminen**.

Viitteet:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Merkkien selitykset

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Instruções do produto

Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7)

Descrição e uso recomendado do produto

O 3M™ Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) é usado com o 3M™ Sistema de Detecção Molecular para a detecção rápida e específica de *E. coli* O157 (incluindo H7) em amostras de alimentos e rações enriquecidos.

Os 3M Ensaio para Detecção Molecular utilizam 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. Os resultados positivos presuntivos devem ser confirmados através do seu método preferido ou conforme especificado pelos regulamentos locais^(1, 2, 3).

O 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) destina-se ao uso em ambiente laboratorial por profissionais treinados em técnicas laboratoriais. A 3M não documentou o uso deste produto em outros setores que não o de alimentos e bebidas. Por exemplo, a 3M não documentou este produto para testar amostras ambientais, farmacêuticas, de cosméticos, clínicas ou veterinárias. O 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) não foi avaliado com todos os possíveis produtos e/ou processos alimentícios, protocolos de teste e nem com todas as linhagens de bactérias possíveis.

Como acontece em 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, preparação de amostras, manuseio e técnica de laboratório também podem influenciar os resultados. A 3M recomenda a avaliação do método, incluindo o meio de enriquecimento no ambiente do usuário, usando um número suficiente de amostras com alimentos específicos e desafios microbianos para garantir que o método atenda aos critérios do usuário.

A 3M avaliou o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) com Água Peptonada Tamponada ISO.

O 3M™ Equipamento de Detecção Molecular destina-se ao uso com amostras que passaram por tratamento térmico durante a etapa de lise do ensaio, projetado para destruir organismos presentes na amostra. Amostras que não foram tratadas com aquecimento de forma adequada durante a etapa de lise do ensaio podem ser consideradas um risco biológico potencial e NÃO devem ser inseridas no 3M Equipamento de Detecção Molecular.

A 3M Food Safety é certificada pela Organização Internacional de Normalização (ISO) 9001 para projeto e fabricação.

O kit de teste do 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) contém 96 testes, descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Componentes do kit 3M Ensaio de Detecção Molecular

Item	Identificação	Quantidade	Conteúdo	Comentários
3M™ Solução de Lise (LS)	Solução rosa em tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µL de 3M Solução de Lise por tubo	Armazenada na rack e pronta para uso
Tubos de reagente 3M™ Ensaio para Detecção Molecular 2 de <i>E. coli</i> O157 (incluindo H7)	Tubos rosa	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mistura de detecção e amplificação específica liofilizada	Prontos para uso
Tampas adicionais	Tampas rosa	96 (12 tiras de 8 tampas)		Prontas para uso
3M™ Controle de Reagentes (RC)	Tubos transparentes com tampa articulada	16 (2 pacotes de 8 tubos individuais)	Mistura liofilizada de controle de DNA de controle, para amplificação e detecção	Pronto para uso
Guia de Início Rápido		1		

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



Segurança

O usuário deve ler, compreender e seguir todas as informações de segurança presentes nas instruções do 3M Sistema de Detecção Molecular e do 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7). Guarde as instruções sobre segurança para consulta posterior.

⚠ ADVERTÊNCIA: indica uma situação de perigo que, se não evitada, pode resultar em morte ou lesões graves e/ou danos materiais.

AVISO: indica uma situação potencialmente perigosa que, se não evitada, pode resultar em danos materiais.

⚠ ADVERTÊNCIA

Não use o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) no diagnóstico de problemas de saúde em humanos ou animais.

O usuário deve treinar sua equipe com técnicas de testes atuais apropriadas: por exemplo, Boas Práticas de Laboratório, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾, ou ISO 7218⁽⁵⁾.

Para reduzir os riscos associados a um resultado falso-negativo que leve à liberação do produto contaminado:

- Siga o protocolo e realize os testes exatamente conforme especificado nas instruções do produto.
- Use um meio preaquecido a $41,5 \pm 1$ °C. Não permita que a temperatura do meio fique abaixo da faixa de temperatura de incubação durante o preparo da amostra.
- Armazene o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) conforme indicado na embalagem e nas instruções do produto.
- Sempre use o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) antes da data de validade.
- Use o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) com alimentos e amostras ambientais de processos de rações e alimentos que tenham sido validadas internamente ou por um terceiro.
- Use o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) somente com superfícies, desinfetantes, protocolos e linhagens de bactérias que tenham sido validados internamente ou por um terceiro.
- Para uma amostra ambiental que contém um tampão neutralizante (NB) com complexo de sulfonato de arila, faça uma diluição de 1:2 antes de testar (1 parte da amostra em 1 parte do caldo de enriquecimento estéril). Outra opção é transferir 10 µL do enriquecimento do tampão neutralizante para os tubos 3M Solução de Lise. Produtos 3M™ Sample Handling que incluem 3M™ Tampão Neutralizante com complexo de sulfonato de arila: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB e HS119510NB.

Para reduzir os riscos de exposição a produtos químicos e agentes biológicos nocivos:

- Execute testes de agentes patogênicos em um laboratório adequadamente equipado, sob o controle de pessoal bem treinado. O meio de enriquecimento incubado e equipamentos ou superfícies que tenham entrado em contato com o meio de enriquecimento incubado podem conter patógenos em níveis suficientes para apresentar riscos à saúde humana.
- Sempre adote as práticas de segurança padrão em laboratórios, como usar trajes de proteção adequados e óculos de proteção ao manipular reagentes e amostras contaminadas.
- Evite o contato com o conteúdo do meio de enriquecimento e dos tubos de reagentes após a amplificação.
- Descarte as amostras enriquecidas e os resíduos contaminados relacionados de acordo com as normas locais/regionais/nacionais/industriais vigentes.
- Não exceda a temperatura recomendada ao ajustar o aquecedor.
- Não exceda o tempo de aquecimento recomendado.
- Utilize um termômetro calibrado adequado para verificar a temperatura de inserção do 3M™ Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular (por exemplo, um termômetro de imersão parcial ou termômetro termopar digital, e não um termômetro de imersão total). O termômetro deve ser colocado no local indicado do 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular.

Para reduzir os riscos de contaminação cruzada ao preparar o ensaio:

- Sempre use luvas (para proteger o usuário e evitar a introdução de nucleases).

Para reduzir os riscos associados à exposição a líquidos quentes:

- Não exceda a temperatura recomendada ao ajustar o aquecedor.
- Não exceda o tempo de aquecimento recomendado.
- Utilize um termômetro calibrado adequado para verificar a temperatura de inserção do 3M™ Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular (por exemplo, um termômetro de imersão parcial ou termômetro termopar digital, e não um termômetro de imersão total). O termômetro deve ser colocado no local indicado do 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular.



AVISO

Para reduzir os riscos de contaminação cruzada ao preparar o ensaio:

- Recomenda-se o uso de ponteiros de pipeta estéreis, com barreira aerossol (filtros) e grau de biologia molecular.
- Utilize uma nova ponteira de pipeta para cada transferência de amostra.
- Utilize Boas Práticas Laboratoriais para transferir a amostra do meio de enriquecimento para o tubo de lise. Para evitar a contaminação da pipeta, o usuário pode decidir adicionar uma etapa de transferência intermediária. Por exemplo, o usuário pode transferir cada amostra enriquecida para um tubo estéril.
- Utilize uma estação de trabalho de biologia molecular contendo lâmpada germicida sempre que possível.

Para reduzir os riscos de um resultado falso-positivo:

- Nunca abra os tubos após a amplificação.
- Sempre descarte os tubos contaminados mergulhando-os em uma solução de água sanitária de 1–5% (v:v em água) por 1 hora, longe da área de preparação de ensaio.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter informações adicionais e informações sobre os regulamentos locais para descarte.

Em caso de dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, acesse nosso site www.3M.com/foodsafety ou entre em contato com o seu representante ou distribuidor local 3M.

Responsabilidade do usuário

Os usuários são responsáveis por se familiarizar com as informações e instruções do produto. Visite nosso site www.3M.com/foodsafety ou entre em contato com o representante ou distribuidor 3M mais próximo para obter mais informações.

Ao selecionar qualquer método de teste, é importante considerar que fatores externos, como métodos de amostragem, protocolos de teste, preparo de amostras, manipulação e técnica laboratorial utilizada, podem influenciar os resultados.

É de responsabilidade do usuário, ao selecionar qualquer método de teste ou produto, avaliar um número suficiente de amostras com as matrizes e testes microbiológicos que permitam assegurar que o método escolhido atenda aos critérios por ele estabelecidos.

Também é de responsabilidade do usuário determinar se o método de teste e os resultados atendem às exigências de seus clientes e fornecedores.

Como em qualquer outro método de teste, os resultados obtidos com qualquer produto da 3M Food Safety não constituem garantia de qualidade das matrizes ou processos com eles testados.

Para ajudar os clientes a avaliar o método para diversas matrizes de alimentos, a 3M desenvolveu o kit 3M™ Controle de Matriz para Detecção Molecular. Quando necessário, utilize o Controle de Matriz (MC) para determinar se a matriz tem a capacidade de impactar os resultados do 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7). Teste diversas amostras representativas da matriz, isto é, amostras obtidas a partir de diferentes origens, durante qualquer período de validação quando adotar o método da 3M, ou quando testar matrizes novas ou desconhecidas ou matrizes que tiverem passado por mudanças de processo ou matéria-prima.

Uma matriz pode ser definida como um tipo de produto com propriedades intrínsecas, tais como composição e processo. As diferenças entre matrizes podem ser tão simples quanto os efeitos causados pelas diferenças em seu processamento ou apresentação; por exemplo, cru vs. pasteurizado, fresco vs. desidratado etc.

Limitação de garantias/recurso limitado

SALVO CONFORME DECLARADO EXPRESSAMENTE EM UMA SEÇÃO DE GARANTIA DE EMPACOTAMENTO DE PRODUTO INDIVIDUAL, A 3M REJEITA TODAS AS GARANTIAS EXPRESSAS E IMPLÍCITAS, INCLUINDO, ENTRE OUTRAS, QUAISQUER GARANTIAS DE COMERCIALIZAÇÃO OU ADEQUAÇÃO PARA UM DETERMINADO USO. Se ficar provado que qualquer produto da 3M Food Safety se encontra defeituoso, a 3M ou seu distribuidor autorizado procederá à respectiva substituição ou, se assim o decidir, restituirá o dinheiro da compra do produto. Estes são os seus únicos termos de recurso. A 3M deverá ser prontamente notificada em até sessenta dias após a descoberta de qualquer defeito suspeito no produto, o qual deverá ser devolvido à 3M. Entre em contato com o Centro de Relacionamento com o Cliente (1-800-328-1671 nos EUA) ou com o seu representante oficial da 3M Food Safety, a fim de obter uma Autorização de Devolução de Mercadoria.

Limitações de responsabilidade da 3M

A 3M NÃO SE RESPONSABILIZARÁ POR QUAISQUER DANOS, SEJAM DIRETOS, INDIRETOS, ESPECIAIS, ACIDENTAIS OU SUBSEQUENTES, INCLUINDO, ENTRE OUTROS, PERDA DE LUCROS. Em nenhuma circunstância nem ao abrigo seja de qualquer teoria jurídica, a responsabilidade da 3M deverá exceder o preço de compra dos produtos supostamente defeituosos.



Armazenamento e descarte

Armazene o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) a 2–8 °C. Não congele. Mantenha o kit fora do alcance da luz durante o armazenamento. Após abrir o kit, verifique se a embalagem protetora de alumínio não está danificada. Se a embalagem estiver danificada, não utilize. Após a abertura, os tubos de reagentes não utilizados devem sempre ser armazenados na embalagem resselável, juntamente com o dessecante para manter a estabilidade dos reagentes liofilizados. Armazene as embalagens resseladas a 2–8 °C por, no máximo, 60 dias.

Não utilize o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) após a data de validade. A data de validade e o número do lote estão anotados no rótulo externo da caixa. Após o uso, o meio de enriquecimento e os tubos do 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) podem conter materiais patogênicos. Quando o teste for concluído, siga os regulamentos-padrão da indústria vigentes para descarte de resíduos contaminados. Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter informações adicionais e informações sobre os regulamentos locais para descarte.

Instruções de uso

Siga todas as instruções com atenção. Caso contrário, pode haver resultados imprecisos.

O usuário deve concluir o treinamento de qualificação do operador do 3M Sistema de Detecção Molecular, conforme descrito no documento “Protocolos e Instruções de Qualificação de Instalação (IQ)/Qualificação Operacional (OQ) para o 3M Sistema de Detecção Molecular”⁽⁷⁾.

Periodicamente, descontamine as bancadas e os equipamentos do laboratório (pipetas, ferramentas de tampar/destampar etc.) com uma solução de 1–5% (v:v em água) de água sanitária ou solução de remoção de DNA.

Consulte a seção “Instruções Específicas para Métodos Comprovados” para obter os requisitos específicos:

Tabela 3 para protocolos de enriquecimento conforme o *Official Method of Analysis*SM 2017.01 da AOAC®

Tabela 4 para protocolos de enriquecimento conforme o certificado NF Validation 3M 01/18-05/17

Enriquecimento de amostra

As Tabelas 2, 3 ou 4 oferecem orientação para protocolos de enriquecimento de alimentos. É responsabilidade do usuário validar os protocolos de amostragem alternativos ou diluições alternativas para garantir que este método de teste atenda aos critérios do usuário.

Alimentos

1. Preequeça o meio de enriquecimento BPW ISO a 41,5 ± 1 °C.
2. Misture asépticamente o meio de enriquecimento e a amostra conforme as Tabelas 2, 3 ou 4. Para carnes e amostras altamente particuladas, recomenda-se o uso de sacos de amostra com filtro.
3. Homogeneíze todas as matrizes, exceto as folhas e frutos, através de mistura, compressão ou mistura à mão por 2 ± 0,2 minutos. Incube a 41,5 ± 1 °C pelo tempo adequado conforme as Tabelas 2, 3 ou 4.

Tabela 2. Protocolos gerais de enriquecimento

Matriz de amostra ^(a)	Tamanho da Amostra	Volume do Caldo de Enriquecimento (mL)	Temperatura de Enriquecimento (± 1 °C)	Tempo de Enriquecimento (horas)
Carne bovina crua, incluindo moída/picadinha e em iscas	325 g	975 BPW ISO (preaquecido)	41,5	10–18
Carnes cruas, incluindo bovina, suína, ovina, de aves e bisão	25 g	225 BPW ISO (preaquecido)	41,5	8–18
Folhas ^(b)	200 g	450 BPW ISO (preaquecido)	41,5	18–24
Outros alimentos, incluindo frutas ^(b) , vegetais, sucos de frutas/vegetais, ervas frescas, frutos do mar crus, ovos crus, leite cru, massa de cookie e carnes processadas	25 g	225 BPW ISO (preaquecido)	41,5	18–24



Nozes ou misturas de frutos secos contendo nozes (esse protocolo é apropriado para outros frutos secos, incluindo pecãs, amêndoas, pistaches, castanhas-de-caju e castanhas-portuguesas)	25 g	225 leite em pó desnatado reconstituído	41,5	18–24
--	------	---	------	-------

(a) Amostras congeladas devem ser equilibradas a 4–8 °C antes de sua adição ao caldo de enriquecimento.

(b) Amostras de folhas e frutos devem ser agitadas cuidadosamente com as mãos por 5 minutos. Não misture ou comprima.

Instruções específicas para métodos comprovados

*Official Methods of Analysis*SM 2017.01 da AOAC®

No programa *Official Method of Analysis*SM da AOAC, o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) foi apontado como um método eficaz para a detecção de *E. coli* O157:H7. As matrizes testadas no estudo são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Protocolos de enriquecimento usando BPW ISO preaquecida a 41,5 ± 1 °C conforme o *Official Methods*SM 2017.01 da AOAC®

Matriz de Amostra	Tamanho da Amostra	Volume do Caldo de Enriquecimento (mL)	Tempo de Enriquecimento (horas)	Homogeneizado
Carne moída crua (teor de carne magra de 73%)	325 g	975	10–18	Manualmente ou por compressão
Espinafre embalado cru ^(a)	200 g	450	18–24	Agitado cuidadosamente com as mãos por 5 minutos; não homogeneíze
Brotos frescos	25 g	225	18–24	Agitado cuidadosamente com as mãos por 5 minutos; não homogeneíze
Mirtilos congelados ^{(a)(b)}	25 g	225	18–24	Agitado cuidadosamente com as mãos por 5 minutos; não homogeneíze

(a) Amostras de folhas e frutos devem ser agitadas gentilmente com as mãos por 5 minutos. Não misture ou comprima.

(b) Amostras congeladas devem ser equilibradas a 4–8 °C antes de sua adição ao caldo de enriquecimento.

NF Validation da AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Para obter mais informações sobre o término da validade, consulte o certificado NF VALIDATION disponível no site supracitado.

Método Certificado NF VALIDATION em conformidade com a ISO 16140-2⁽⁸⁾ em comparação com a ISO 16654⁽³⁾

Escopo da validação: carne bovina crua, laticínios crus, frutas e vegetais crus

Preparo da amostra: as amostras devem ser preparadas conforme a EN ISO 16654 e a EN ISO 6887⁽⁶⁾

Versão do software: consulte o certificado

Tabela 4. Protocolos de enriquecimento usando BPW ISO preaquecida a $41,5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ conforme o método certificado NF VALIDATION da 3M 01/18-05/17

Protocolo	Tamanho da Amostra	Volume do Caldo de Enriquecimento (mL)	Temperatura de Enriquecimento ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$)	Tempo de Enriquecimento (horas)
Laticínios crus, frutas cruas e vegetais crus	25 g	225	41,5	18–24
Carne bovina crua	25 g	225	41,5	8–24

Notas:

- Amostras mais pesadas que 25 g não foram testadas no estudo NF VALIDATION.
- Os pontos de interrupção de protocolo recomendados ocorrem após o enriquecimento ou a lise da amostra. Os caldos de enriquecimento ou lisados de amostra podem ser armazenados a $2\text{--}8 \text{ }^\circ\text{C}$ por até 72 horas. Após a remoção do caldo de enriquecimento do armazenamento, continue o teste a partir da Etapa 1, na seção **Lise**. Após a remoção do lisado de amostra do armazenamento, continue o teste a partir da Etapa 7, na seção **Lise**. O lisado também pode ser armazenado a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Os protocolos de enriquecimento curtos são sensíveis às condições de incubação; sendo assim, as temperaturas indicadas no protocolo devem ser seguidas. A temperatura do banho-maria ou da incubadora, na qual os caldos estão sendo preaquecidos, deve ser verificada a fim de garantir que o caldo de enriquecimento alcance a temperatura exigida. O tempo total para a preparação da amostra, incluindo o intervalo entre o final da fase de preaquecimento do meio e o começo da incubação da amostra de alimento, não deve exceder 45 minutos. É recomendado o uso de uma incubadora ventilada durante a incubação.

Preparo da 3M™ Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular

1. Umedeça um pano em uma solução de 1–5% (v:v em água) de água sanitária e limpe a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular.
2. Enxágue a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular com água.
3. Utilize uma toalha descartável para secar a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular.
4. Certifique-se de que a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular esteja seca antes de utilizá-la.

Preparação do 3M™ Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular

Coloque o 3M Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular diretamente sobre a bancada do laboratório: a 3M Bandeja de Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular não é utilizada. Utilize o bloco à temperatura ambiente do laboratório ($20\text{--}25 \text{ }^\circ\text{C}$).

Preparo do 3M™ Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular

Coloque o 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular em uma unidade de aquecimento com bloco seco duplo. Ligue a unidade de aquecimento de bloco a seco e defina a temperatura para permitir que o 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular alcance e mantenha a temperatura de $100 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

NOTA: dependendo da unidade de aquecimento, aguarde aproximadamente 30 minutos até que o 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular alcance a temperatura. Utilizando um termômetro calibrado adequado (por exemplo, um termômetro de imersão parcial ou um termômetro digital de termopares, não um termômetro de imersão total) colocado no local indicado, verifique se o 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular está a $100 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

Preparo do 3M™ Equipamento de Detecção Molecular

1. Inicie o 3M™ Software de Sistema de Detecção Molecular e faça log in. Entre em contato com o representante 3M Food Safety para garantir que você possui a versão mais atualizada do software.
2. Ligue o 3M Equipamento de Detecção Molecular.
3. Crie ou edite uma execução com dados para cada amostra. Consulte o Manual do Usuário do 3M™ Sistema de Detecção Molecular para obter mais detalhes.

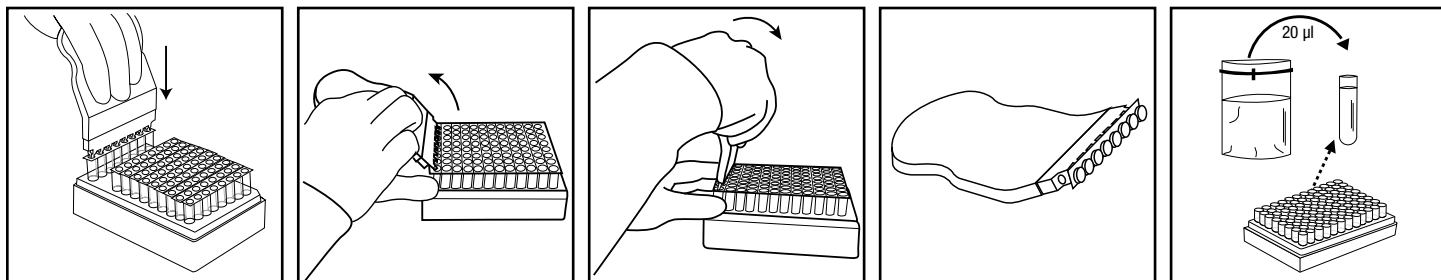
NOTA: o 3M Equipamento de Detecção Molecular deve alcançar e manter a temperatura de $60 \text{ }^\circ\text{C}$ antes da inserção da 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular com os tubos de reação. Esta etapa de aquecimento leva aproximadamente 20 minutos e é indicada por uma luz LARANJA na barra de status do instrumento. Quando o equipamento estiver pronto para iniciar uma execução, a barra de status ficará VERDE.

Lise

1. Deixe que os tubos de 3M Solução de Lise cheguem à temperatura ambiente (20–25 °C), deixando as racks fora de refrigeração de um dia para o outro (16–18 horas). A alternativa para equilibrar os tubos 3M Solução de Lise à temperatura ambiente é posicioná-los na bancada do laboratório durante pelo menos 2 horas, incubá-los em uma incubadora de 37 ± 1 °C por 1 hora ou colocá-los em um aquecedor com bloco seco duplo por 30 segundos a 100 °C.
2. Inverta os tubos com tampa para misturar. Prossiga para a próxima etapa em até 4 horas.
3. Remova o caldo de enriquecimento da incubadora.
4. Um tubo de 3M Solução de Lise é necessário para cada amostra e para a amostra do Controle Negativo (NC) (meio de enriquecimento esterilizado).
 - 4.1 As tiras de tubos 3M Solução de Lise podem ser cortadas para obter o número desejado de tubos. Selecione o número de tubos de 3M Solução de Lise individuais ou as tiras de 8 tubos necessárias. Coloque os tubos de 3M Solução de Lise em uma rack vazia.
 - 4.2 Para evitar contaminação cruzada, destampe uma tira de tubo 3M Solução de Lise de cada vez e utilize uma nova ponteira de pipeta para cada etapa da transferência.
 - 4.3 Transfira a amostra enriquecida para os tubos 3M Solução de Lise conforme descrito abaixo:

Primeiro, transfira cada amostra enriquecida para um tubo 3M Solução de Lise individual. **Por último**, transfira o NC.

- 4.4 Utilize a 3M™ Ferramenta de Tampar/Destampar para Detecção Molecular – Lise para destampar uma tira de tubos 3M Solução de Lise – uma tira de cada vez.
- 4.5 Descarte a tampa do tubo de 3M Solução de Lise – se o lisado for mantido para novo teste, coloque as tampas em um recipiente limpo para reutilização após a lise.
 - 4.5.1 Para processar o lisado mantido, consulte o Apêndice A.
- 4.6 Transfira 20 µL de amostra para um tubo de 3M Solução de Lise, salvo indicação contrária nas Tabelas de protocolo 2, 3 e 4.

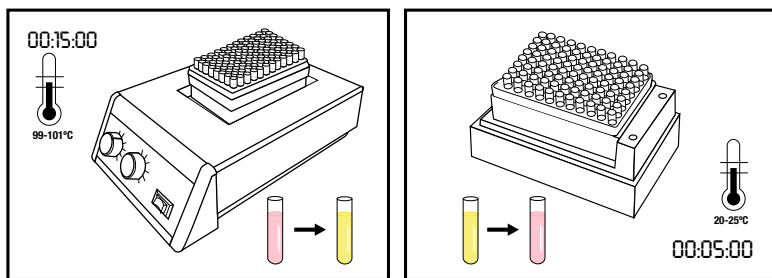


5. Repita a etapa 4.3 até que todas as amostras individuais tenham sido adicionadas a um tubo 3M Solução de Lise correspondente na tira.
6. Repita as etapas 4.1 a 4.6, conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas.
7. Quando todas as amostras tiverem sido transferidas, transfira 20 µL de NC (meio de enriquecimento estéril, por exemplo, BPW ISO) para um tubo 3M Solução de Lise. Não use água como um NC.
8. Verifique se a temperatura do 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular está a 100 ± 1 °C.
9. Coloque a rack descoberta de tubos 3M Solução de Lise no 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular e aqueça por 15 ± 1 minutos. Durante o aquecimento, a 3M Solução de Lise mudará da cor rosa (frio) para amarelo (quente).

Amostras que não foram tratadas com aquecimento de forma adequada durante a etapa de lise do ensaio podem ser consideradas um risco biológico potencial e NÃO devem ser inseridas no 3M Equipamento de Detecção Molecular.
10. Retire a rack descoberta de tubos 3M Solução de Lise do bloco de aquecimento e deixe esfriar no 3M Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular por pelo menos 5 minutos e no máximo 10 minutos. O 3M Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular, usado em temperatura ambiente sem a 3M Bandeja de Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular, deve ser colocado diretamente sobre a bancada do laboratório. Quando resfriada, a Solução de Lise voltará à cor rosa.



11. Retire a rack de tubos 3M Solução de Lise do 3M Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular.

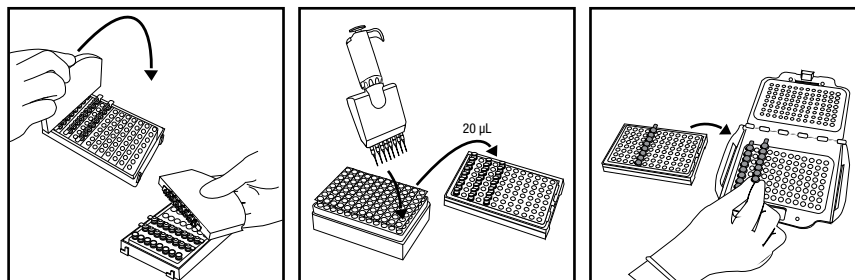


Amplificação

1. É necessário um Tubo de Reagente de 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) para cada amostra e para o NC.
 - 1.1 As tiras de tubos podem ser cortadas para obter o número de tubos desejado. Selecione o número de Tubos de Reagente individuais ou de tiras de 8 tubos individuais necessários para o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7).
 - 1.2 Coloque os Tubos de Reagente 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) em uma rack vazia.
 - 1.3 Evite agitar os reagentes precipitados da parte inferior dos tubos.
2. Selecione um tubo 3M Controle de Reagentes e coloque-o na rack.
3. Para evitar contaminação cruzada, destampe uma tira de Tubo de Reagente para 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) de cada vez e utilize uma nova ponteira de pipeta para cada etapa da transferência.
4. Transfira o lisado para um Tubo de Reagente 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) e para um tubo 3M Controle de Reagentes conforme descrito abaixo:

Primeiro, transfira cada amostra de lisado para Tubos de Reagente individuais de 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) e depois para o NC. **Por último**, hidrate o tubo do 3M Controle de Reagentes.

5. Use a 3M™ Ferramenta de Tampar/Destampar para Detecção Molecular – Reagente para destampar os Tubos de Reagente para 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) – uma tira de cada vez. Descarte a tampa.
 - 5.1 **Transfira 20 µL do lisado da amostra da ½ superior do líquido (evite o precipitado) no tubo de 3M Solução de Lise para o Tubo de Reagente do 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) correspondente. Dispense em um ângulo que evite a agitação dos pellets. Misture pipetando cuidadosamente 5 vezes.**
 - 5.2 Repita a etapa 5.1 até que a amostra de lisado individual tenha sido adicionada a um Tubo de Reagente para o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) correspondente na tira.
 - 5.3 Cubra os Tubos de Reagentes 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) com a tampa adicional fornecida e utilize o lado arredondado da 3M Ferramenta de Tampar/Destampar para Detecção Molecular – Reagente para apertar com um movimento de vai e vem, garantindo que a tampa fique bem apertada.
 - 5.4 Repita as etapas 5.1 a 5.3, conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas.
 - 5.5 Quando todas as amostras de lisado tiverem sido transferidas, repita as etapas de 5.1 a 5.3 para transferir 20 µL de lisado NC para o Tubo de Reagente de 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7).
 - 5.6 **Transfira 20 µL de lisado NC para um tubo 3M Controle de Reagentes.** Dispense em um ângulo que evite a agitação dos pellets. Misture pipetando cuidadosamente 5 vezes.
6. Carregue os tubos tampados em uma 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular limpa e descontaminada. Em seguida, feche e trave a tampa.





7. Analise e confirme a execução configurada no 3M Software do Sistema de Detecção Molecular.
8. Clique no botão Iniciar do software e selecione o instrumento a utilizar. A tampa do instrumento selecionado abre automaticamente.
9. Posicione a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular no 3M Equipamento de Detecção Molecular e feche a tampa para iniciar o ensaio. Os resultados são fornecidos em 60 minutos, embora os positivos possam ser detectados ainda mais cedo.
10. Depois que o ensaio estiver concluído, remova a 3M Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular do 3M Equipamento de Detecção Molecular e descarte os tubos mergulhando-os em uma solução de 1–5% (v: v em água) de água sanitária por 1 hora, fora da área de preparação do ensaio.

AVISO: para minimizar o risco de falso-positivos por contaminação cruzada, nunca abra tubos de reagentes que contenham DNA amplificado. Isso inclui o 3M Controle de Reagentes, 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) e o 3M Tubos de Controle de Matriz. Sempre descarte os tubos de reagentes selados mergulhando-os em uma solução de 1–5% (v: v em água) de água sanitária por 1 hora, fora da área de preparação do ensaio.

Resultados e Interpretação

Um algoritmo interpreta a curva de saída de luz que resulta da detecção da amplificação do ácido nucleico. Os resultados são analisados automaticamente pelo software e são codificados em cores de acordo com o resultado. Um resultado é determinado positivo ou negativo através da análise de diversos parâmetros exclusivos das curvas. Resultados positivos presuntivos são relatados em tempo real, enquanto resultados negativos e resultados de inspeção serão exibidos após a conclusão da execução.

Amostras positivas presuntivas devem ser confirmadas de acordo com os procedimentos operacionais padrão de laboratório, ou seguindo o método de confirmação de referência apropriado^(1,2,3), começando com a transferência do enriquecimento primário BPW ISO para o(s) caldo(s) de enriquecimento secundário, seguida pelo plaqueamento subsequente e a confirmação de isolados usando métodos bioquímicos e sorológicos adequados.

NOTA: até mesmo uma amostra negativa não resultará em leitura zero, uma vez que o sistema e os reagentes de amplificação do 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) têm uma leitura de unidade de luz relativa (RLU) em "plano de fundo".

Em casos raros de saída de luz fora do comum, o algoritmo rotula o caso como "Inspeccionar". A 3M recomenda que o usuário repita o ensaio para qualquer amostra Inspeccionar. Se o resultado continuar a ser Inspeccionar, prossiga com o teste de confirmação utilizando o método de sua preferência ou conforme especificado pelos regulamentos locais.

Na ocorrência de resultados divergentes (positivo presuntivo com o 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7), não confirmados por um dos métodos acima descritos, em particular para o teste de aglutinação em látex), o laboratório deve seguir as etapas necessárias para garantir a validade dos resultados obtidos.

Confirmação de resultados segundo o método certificado NF VALIDATION

No contexto do NF VALIDATION, todas as amostras identificadas como positivas pelo 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) devem ser confirmadas por um dos testes seguintes:

Opção 1: uso da norma ISO 16654⁽³⁾, a partir do enriquecimento de água⁽³⁾ peptonada tamponada.

Opção 2: implementação de um método de confirmação que consista em: Semear por esgotamento 50 µL do enriquecimento de água⁽³⁾ peptonada tamponada em uma placa de ágar MacConkey sorbitol com cefixima e telurito de potássio (CT-SMAC)⁽³⁾. Incubar por 24 ± 3 horas a 37 °C. Semeie colônias características no ágar nutriente e realize um teste de aglutinação em látex diretamente nas colônias isoladas. Se os resultados do 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7) não forem confirmados, realize uma etapa de separação imunomagnética e então semeie 50 µL na CT-SMAC.

Opção 3: utilização de sondas de ácido nucleico conforme descritas na norma EN ISO 7218⁽⁵⁾, em colônias isoladas (purificadas ou não) de CT-SMAC (ver Opções 1 ou 2). As sondas de ácido nucleico devem ser diferentes daquelas usadas no 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7).

Opção 4: utilização de algum outro método certificado NF VALIDATION, cujo princípio seja diferente do 3M Ensaio para Detecção Molecular 2 de *E. coli* O157 (incluindo H7). Deve ser usado o protocolo completo descrito para esse segundo método comprovado. Todas as etapas anteriores ao início da confirmação devem ser comuns a ambos os métodos.

Na ocorrência de resultados divergentes (positivo presuntivo com o método alternativo, não confirmado por um dos meios acima descritos) o laboratório deve seguir as etapas necessárias para garantir a validade dos resultados obtidos.

Em caso de dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, acesse nosso site www.3M.com/foodsafety ou entre em contato com o seu representante ou distribuidor local 3M.



Apêndice A. Interrupção de protocolo: armazenamento e novo teste das amostras

1. Para armazenar um lisado tratado termicamente, tampe novamente o tubo de lise com uma tampa limpa (consulte a seção **Lise**, 4.5).
2. Para armazenar uma amostra enriquecida, incube-a por no mínimo 18 horas antes do armazenamento.
3. Armazene entre 4 e 8 °C por até 72 horas.
4. Prepare uma amostra armazenada para amplificação invertendo de 2 a 3 vezes para misturar.
5. Destampe os tubos.
6. Coloque os tubos de lisado misturados no 3M Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular e aqueça a 100 ± 1 °C por 5 ± 1 minutos.
7. Retire a rack de tubos 3M Solução de Lise do bloco de aquecimento e deixe esfriar no 3M Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular por pelo menos 5 minutos e no máximo 10 minutos.
8. Continue o protocolo na seção **Amplificação** detalhada acima.

Referências:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Explicação dos símbolos

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Πληροφορίες προϊόντος

Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7)

Περιγραφή του προϊόντος και σκοπός χρήσης

Η 3M™ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) χρησιμοποιείται με το 3M™ Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης για τη γρήγορη και εξειδικευμένη ανίχνευση του *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7), σε εμπλουτισμένα περιβαλλοντικά δείγματα τροφίμων και διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων.

Οι 3M Δοκιμασίες Μοριακής Ανίχνευσης χρησιμοποιούν ισοθερμικό πολλαπλασιασμό με μεσολάβηση βρόχου για το γρήγορο πολλαπλασιασμό αλληλουχιών νουκλεϊνικών οξέων με υψηλή ειδικότητα και ευαισθησία, σε συνδυασμό με βιοφωταύγεια για την ανίχνευση του πολλαπλασιασμού. Τα υποθετικά θετικά αποτελέσματα αναφέρονται σε πραγματικό χρόνο, ενώ τα αρνητικά αποτελέσματα εμφανίζονται μετά την ολοκλήρωση της δοκιμασίας. Τα υποθετικά θετικά αποτελέσματα πρέπει να επιβεβαιώνονται χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που προτιμάτε ή όπως καθορίζεται από τους τοπικούς κανονισμούς^(1, 2, 3).

Η 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) προορίζεται για χρήση σε εργαστηριακό περιβάλλον από επαγγελματίες εκπαιδευμένους στις εργαστηριακές τεχνικές. Η 3M δεν έχει τεκμηριώσει τη χρήση αυτού του προϊόντος σε βιομηχανίες άλλες από εκείνες των τροφίμων και ποτών. Για παράδειγμα, η 3M δεν έχει τεκμηριώσει αυτό το προϊόν για τον έλεγχο δειγμάτων περιβαλλοντικών προϊόντων, φαρμακευτικών προϊόντων, καλλυντικών, κλινικών ή κτηνιατρικών δειγμάτων. Η 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) δεν έχει αξιολογηθεί με όλα τα πιθανά προϊόντα τροφίμων, διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων, πρωτόκολλα ελέγχου ή με όλα τα πιθανά στελέχη βακτηριδίων.

Όπως και με όλες τις δοκιμαστικές μεθόδους, η προέλευση, η σύνθεση και η ποιότητα του μέσου εμπλουτισμού μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα.

Παράγοντες όπως οι μέθοδοι δειγματοληψίας, τα πρωτόκολλα ελέγχου, η προετοιμασία των δειγμάτων, ο χειρισμός και η εργαστηριακή τεχνική μπορούν επίσης να επηρεάσουν τα αποτελέσματα. Η 3M συνιστά την αξιολόγηση της μεθόδου, συμπεριλαμβανομένου του μέσου εμπλουτισμού, στο περιβάλλον του χρήστη με τη χρήση επαρκούς αριθμού δειγμάτων με συγκεκριμένα τρόφιμα και μικροβιακές προκλήσεις ώστε να διασφαλιστεί ότι η μέθοδος πληροί τα κριτήρια του χρήστη.

Η 3M έχει αξιολογήσει την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) με Ρυθμιστικό Νερό Πεπτόνης ISO.

Το 3M™ Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης προορίζεται για χρήση με δείγματα που έχουν υποβληθεί σε θερμική επεξεργασία κατά τη διάρκεια του σταδίου λύσης της δοκιμασίας, το οποίο είναι σχεδιασμένο για την καταστροφή των οργανισμών που είναι παρόντες στο δείγμα. Δείγματα που δεν έχουν υποβληθεί στην κατάλληλη θερμική επεξεργασία κατά τη διάρκεια του σταδίου λύσης της δοκιμασίας μπορούν να θεωρηθούν ως πιθανός βιολογικός κίνδυνος και ΔΕΝ πρέπει να εισάγονται στο 3M Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης.

Η 3M Food Safety φέρει πιστοποίηση σύμφωνα με το πρότυπο του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO) 9001 για σχεδιασμό και παραγωγή.

Το κιτ ελέγχου 3M Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) περιέχει 96 δοκιμαστικά τεστ που περιγράφονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Στοιχεία του κιτ 3M Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης

Είδος	Ταυτοποίηση	Ποσότητα	Περιεχόμενα	Σχόλια
3M™ Διάλυμα Λύσης (LS)	Ροζ διάλυμα σε διαφανείς δοκιμαστικούς σωλήνες	96 (12 σειρές των 8 δοκιμαστικών σωλήνων)	580 mL Διάλυμα Λύσης ανά δοκιμαστικό σωλήνα	Σε στατώ και έτοιμο προς χρήση
Δοκιμαστικοί σωλήνες αντιδραστηρίου 3M™ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - <i>E. coli</i> O157 (εμπεριέχον H7)	Ροζ δοκιμαστικοί σωλήνες	96 (12 σειρές των 8 δοκιμαστικών σωλήνων)	Λυοφιλοποιημένο ειδικό μίγμα πολλαπλασιασμού και ανίχνευσης	Έτοιμο προς χρήση

Επιπλέον πώματα	Ροζ πώματα	96 (12 σειρές των 8 πωμάτων)		Έτοιμο προς χρήση
3M™ Έλεγχος Αντιδραστηρίου (RC)	Διαφανείς δοκιμαστικοί σωλήνες με αρθρωτό πώμα	16 (2 σακουλάκια των 8 ατομικών δοκιμαστικών σωλήνων)	Λυοφιλοποιημένος έλεγχος DNA, μίγμα πολλαπλασιασμού και ανίχνευσης	Έτοιμο προς χρήση
Οδηγός γρήγορης έναρξης		1		

Ο Αρνητικός Έλεγχος, που δεν παρέχεται στο κιτ, είναι ένα στείρο μέσο εμπλουτισμού, π.χ. Ρυθμιστικό Νερό Πειπόνης (BPW) ISO. Μη χρησιμοποιείτε νερό ως Αρνητικό Έλεγχο.

Ασφάλεια

Ο χρήστης πρέπει να διαβάσει, να κατανοήσει και να ακολουθήσει όλες τις πληροφορίες ασφαλείας στις οδηγίες για το 3M Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης και την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7). Φυλάξτε τις οδηγίες ασφαλείας για μελλοντική αναφορά.

⚠ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Υποδεικνύει μια επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα θάνατο ή σοβαρό τραυματισμό ή/και υλική ζημιά.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Υποδεικνύει μια δυνητικά επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα υλική ζημιά.

⚠ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Μη χρησιμοποιείτε την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) για τη διάγνωση καταστάσεων σε ανθρώπους ή ζώα.

Ο χρήστης πρέπει να εκπαιδευτεί το προσωπικό του στις τρέχουσες κατάλληλες τεχνικές ελέγχου: Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ ή ISO 7218⁽⁵⁾.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ένα ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα που οδηγεί στην αποδέσμευση μολυσμένου προϊόντος:

- Ακολουθείτε το πρωτόκολλο και διενεργείτε τους ελέγχους ακριβώς όπως περιγράφεται στις πληροφορίες του προϊόντος.
- Χρησιμοποιείτε μέσο προθερμασμένο στους $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$. Μην επιτρέπετε στο μέσο να πέσει κάτω από το εύρος της θερμοκρασίας επώασης, κατά την προετοιμασία του δείγματος.
- Φυλάσσετε την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) όπως υποδεικνύεται στη συσκευασία και στις πληροφορίες προϊόντος.
- Χρησιμοποιείτε πάντα την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) μέχρι την ημερομηνία λήξης του.
- Χρησιμοποιείτε την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) με περιβαλλοντικά δείγματα τροφίμων και διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων που έχουν επικυρωθεί εσωτερικά ή από τρίτο μέρος.
- Χρησιμοποιείτε την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) μόνο με επιφάνειες, αποστειρωτικά μέσα, πρωτόκολλα και βακτηριακά στελέχη που έχουν επικυρωθεί εσωτερικά ή από τρίτο μέρος.
- Για ένα περιβαλλοντικό δείγμα που περιέχει Ρυθμιστικό Διάλυμα Ουδετεροποίησης (NB) με αρυλ-σουλφονικό σύμπλοκο, πραγματοποιήστε αραιώση 1:2 πριν τον έλεγχο (1 μέρος δείγματος σε 1 μέρος στείρου ζωμού εμπλουτισμού). Μια άλλη επιλογή είναι να μεταφέρετε 10 μL ουδετεροποιητικού ρυθμιστικού διαλύματος εμπλουτισμού μέσα στους δοκιμαστικούς σωλήνες 3M Διαλύματος Λύσης. Προϊόντα Χειρισμού Δειγμάτων της 3M™ που περιέχουν 3M™ Ρυθμιστικό Διάλυμα Ουδετεροποίησης με αρυλ-σουλφονικό σύμπλοκο: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB και HS119510NB.

Για να μειώσετε τον κίνδυνο που σχετίζεται με την έκθεση σε χημικές ουσίες και βιολογικούς κινδύνους:

- Διενεργείτε τον έλεγχο παθογόνων σε κατάλληλα εξοπλισμένο εργαστήριο υπό τον έλεγχο εκπαιδευμένου προσωπικού. Επωασμένα μέσα εμπλουτισμού και εξοπλισμός ή επιφάνειες που έχουν έρθει σε επαφή με επωασμένα μέσα εμπλουτισμού μπορεί να περιέχουν παθογόνα σε επίπεδα επαρκή ώστε να προκαλέσουν κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία.
- Τηρείτε πάντοτε τις σύνηθες πρακτικές εργαστηριακής ασφαλείας, όπως χρήση κατάλληλης προστατευτικής ενδυμασίας και προστασίας ματιών, όταν χειρίζεστε αντιδραστήρια και μολυσμένα δείγματα.
- Αποφεύγετε την επαφή με τα περιεχόμενα των μέσων εμπλουτισμού και με τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου μετά τον πολλαπλασιασμό.
- Απορρίπτετε τα εμπλουτισμένα δείγματα και τα σχετικά μολυσμένα απόβλητα σύμφωνα με τα τρέχοντα τοπικά/περιφερειακά/εθνικά/κανονιστικά πρότυπα.
- Μην υπερβαίνετε τη συνιστώμενη ρύθμιση θερμοκρασίας στο θερμαντήρα.
- Μην υπερβαίνετε το συνιστώμενο χρόνο θέρμανσης.



- Χρησιμοποιείτε ένα κατάλληλο, βαθμονομημένο θερμόμετρο για να επαληθεύσετε τη θερμοκρασία του 3M™ Ένθετου για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρος Μοριακής Ανίχνευσης (π.χ. θερμόμετρο μερικής εμβύθισης ή ψηφιακό θερμόμετρο θερμοστοιχείου, όχι θερμόμετρο ολικής εμβύθισης). Το θερμόμετρο πρέπει να τοποθετείται στην προβλεπόμενη θέση στο 3M Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με διασταυρούμενη μόλυνση κατά την προετοιμασία της δοκιμασίας:

- Φοράτε πάντοτε γάντια (για την προστασία του χρήστη και την πρόληψη εισαγωγής νουκλεασών).

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με την έκθεση σε καυτά υγρά:

- Μην υπερβαίνετε τη συνιστώμενη ρύθμιση θερμοκρασίας στο θερμαντήρα.
- Μην υπερβαίνετε το συνιστώμενο χρόνο θέρμανσης.
- Χρησιμοποιείτε ένα κατάλληλο, βαθμονομημένο θερμόμετρο για να επαληθεύσετε τη θερμοκρασία του 3M™ Ένθετου για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρος Μοριακής Ανίχνευσης (π.χ. θερμόμετρο μερικής εμβύθισης ή ψηφιακό θερμόμετρο θερμοστοιχείου, όχι θερμόμετρο ολικής εμβύθισης). Το θερμόμετρο πρέπει να τοποθετείται στην προβλεπόμενη θέση στο 3M Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με διασταυρούμενη μόλυνση κατά την προετοιμασία της δοκιμασίας:

- Συνιστάται να χρησιμοποιούνται αποστειρωμένα, με φραγμό για αερολύματα (με φίλτρο), ρύγχη πιπέτας κατηγορίας μοριακής βιολογίας.
- Χρησιμοποιείτε νέο ρύγχος πιπέτας για κάθε μεταφορά δείγματος.
- Χρησιμοποιείτε Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές για τη μεταφορά του δείγματος από το δοκιμαστικό σωλήνα εμπλουτισμού στο δοκιμαστικό σωλήνα λύσης. Για να αποφευχθεί η μόλυνση της πιπέτας, ο χρήστης μπορεί να επιλέξει να προσθέσει ένα ενδιάμεσο βήμα μεταφοράς. Για παράδειγμα, ο χρήστης μπορεί να μεταφέρει κάθε εμπλουτισμένο δείγμα μέσα σε έναν αποστειρωμένο δοκιμαστικό σωλήνα.
- Χρησιμοποιείτε σταθμό εργασίας μοριακής βιολογίας που να περιέχει μικροβιοκτόνο λυχνία, όπου είναι διαθέσιμη.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ψευδώς θετικό αποτέλεσμα:

- Μην ανοίγετε ποτέ τους δοκιμαστικούς σωλήνες μετά τον πολλαπλασιασμό.
- Απορρίψτε πάντοτε τους μολυσμένους δοκιμαστικούς σωλήνες μουλιάζοντάς τους σε διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) για 1 ώρα και μακριά από την περιοχή προετοιμασίας της δοκιμασίας.

Για επιπλέον πληροφορίες συμβουλευθείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας και τους τοπικούς κανονισμούς σχετικά με την απόρριψη.

Εάν έχετε ερωτήσεις σχετικά με συγκεκριμένες εφαρμογές ή διαδικασίες, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη διεύθυνση www.3M.com/foodsafety ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της 3M.

Ευθύνη του χρήστη

Οι χρήστες είναι υπεύθυνοι να εξοικειωθούν με τις οδηγίες και τις πληροφορίες του προϊόντος. Επισκεφθείτε την ιστοσελίδα μας στο www.3M.com/foodsafety ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της 3M για περισσότερες πληροφορίες.

Κατά την επιλογή μίας μεθόδου ελέγχου, είναι σημαντικό να αναγνωρίζετε ότι εξωτερικοί παράγοντες, όπως μέθοδοι δειγματοληψίας, πρωτόκολλα ελέγχου, προετοιμασία και χειρισμός δειγμάτων και η εργαστηριακή τεχνική μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη η επιλογή οποιαδήποτε μεθόδου ή προϊόντος ελέγχου, για να αξιολογήσει έναν επαρκή αριθμό δειγμάτων με κατάλληλα είδη τροφίμων και μικροβιακές προκλήσεις, ώστε η επιλεγμένη μέθοδος να ικανοποιεί τα κριτήρια του χρήστη.

Αποτελεί επίσης ευθύνη του χρήστη να καθορίσει ότι όλες οι μέθοδοι δοκιμασίας και τα αποτελέσματα ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις των πελατών και των προμηθευτών του.

Όπως και με κάθε μέθοδο ελέγχου, τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από τη χρήση οποιουδήποτε προϊόντος 3M Food Safety δεν συνιστούν εγγύηση της ποιότητας των σχετικών τροφίμων ή των διαδικασιών που υποβάλλονται σε έλεγχο.

Για να βοηθήσει τους πελάτες να αξιολογήσουν τη μέθοδο για τις διάφορες μήτρες τροφίμων, η 3M έχει αναπτύξει το κιτ 3M™ Πίνακας Ελέγχου Μοριακής Ανίχνευσης. Όταν χρειάζεται, χρησιμοποιήστε τον Πίνακα Ελέγχου (MC) για να προσδιορίσετε εάν η μήτρα έχει τη δυνατότητα να επηρεάσει τα αποτελέσματα από την 3M Δοκιμασία

Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7). Ελέγξτε διάφορα δείγματα που είναι αντιπροσωπευτικά της μήτρας, δηλ. δείγματα που λαμβάνονται από διαφορετική προέλευση, κατά τη διάρκεια οποιασδήποτε περιόδου επικύρωσης όταν υιοθετείτε τη μέθοδο της 3M, ή όταν ελέγχετε νέες ή άγνωστες μήτρες ή μήτρες που έχουν υποβληθεί σε αλλαγές στις πρώτες ύλες ή στην επεξεργασία.

Μια μήτρα μπορεί να οριστεί ως ένας τύπος προϊόντος με ενδογενείς ιδιότητες όπως σύνθεση και επεξεργασία. Οι διαφορές μεταξύ των μητρών μπορεί να είναι απλές, όπως οι επιδράσεις που προκαλούνται από διαφορές στην επεξεργασία ή στην παρουσίασή τους, για παράδειγμα, ακατέργαστο έναντι παστεριωμένου, φρέσκο έναντι αποξηραμένου κτλ.

Περιορισμός εγγυήσεων / Περιορισμένη αποκατάσταση

ΕΚΤΟΣ ΕΑΝ ΔΗΛΩΝΕΤΑΙ ΡΗΤΑ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗΣ ΕΓΓΥΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΤΟΜΙΚΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ, Η 3M ΠΑΡΑΙΤΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΡΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΝΝΟΟΥΜΕΝΕΣ ΕΓΓΥΗΣΕΙΣ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΑ ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΟΠΟΙΩΝΔΗΠΟΤΕ ΕΓΓΥΗΣΕΩΝ ΕΜΠΟΡΕΥΣΙΜΟΤΗΤΑΣ Ή ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ. Εάν οποιοδήποτε προϊόν 3M Food Safety είναι ελαττωματικό, η 3M ή ο εξουσιοδοτημένος διανομέας της, σύμφωνα με την κρίση τους, θα αντικαταστήσουν ή επιστρέψουν την αξία αγοράς του προϊόντος. Αυτοί είναι οι αποκλειστικοί τρόποι αποκατάστασης. Πρέπει άμεσα και εντός εξήντα ημερών να γνωστοποιήσετε στην 3M την ανεύρεση των πιθανολογούμενων ελαττωμάτων του προϊόντος και να επιστρέψετε το προϊόν στην 3M. Παρακαλούμε καλέστε το Τμήμα Εξυπηρέτησης Πελατών (1-800-328-1671 στις Η.Π.Α.) ή τον επίσημο αντιπρόσωπο της 3M Food Safety για την Έγκριση Επιστροφής Προϊόντων.

Περιορισμός της ευθύνης της 3M

Η 3M ΔΕΝ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΟΠΟΙΑΔΗΠΟΤΕ ΑΠΩΛΕΙΑ Ή ΖΗΜΙΑ, ΕΙΤΕ ΑΜΕΣΗ, ΕΜΜΕΣΗ, ΕΙΔΙΚΗ, ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗ Ή ΑΠΟΘΕΤΙΚΗ ΖΗΜΙΑ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΑ, ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΔΙΑΦΥΓΟΝΤΩΝ ΚΕΡΔΩΝ. Η ευθύνη της 3M δεν υπερβαίνει σε καμία περίπτωση και υπό καμία νομική θεωρία την αξία αγοράς του προϊόντος που εικάζεται ότι είναι ελαττωματικό.

Αποθήκευση και απόρριψη

Φυλάσσετε την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) στους 2-8°C. Μην καταψύχετε. Αποφεύγετε την έκθεση του κιτ στο φως κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Αφού ανοίξετε το κιτ, ελέγξτε ότι το αλουμινένιο σακουλάκι είναι άθικτο. Εάν το αλουμινένιο σακουλάκι έχει υποστεί ζημιά, μη χρησιμοποιήσετε το προϊόν. Μετά το άνοιγμα, οι αχρησιμοποίητοι δοκιμαστικοί σωλήνες αντιδραστηρίων πρέπει πάντοτε να φυλάσσονται στο επανασφραγιζόμενο σακουλάκι με το αφυγραντικό μέσο, ώστε να διατηρείται η σταθερότητα των λυοφιλοποιημένων αντιδραστηρίων. Φυλάσσετε τα επανασφραγισμένα σακουλάκια στους 2-8°C για χρονικό διάστημα όχι μεγαλύτερο από 60 ημέρες.

Μη χρησιμοποιείτε την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) μετά από την ημερομηνία λήξης. Η ημερομηνία λήξης και ο αριθμός παρτίδας επισημαίνονται στην εξωτερική ετικέτα του κουτιού. Μετά τη χρήση, το μέσο εμπλουτισμού και οι δοκιμαστικοί σωλήνες της 3M Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) μπορεί ενδεχομένως να περιέχουν παθογόνα υλικά. Μετά την ολοκλήρωση του ελέγχου, τηρείτε τα τρέχοντα βιομηχανικά πρότυπα για την απόρριψη μολυσμένων αποβλήτων. Για επιπλέον πληροφορίες συμβουλευθείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας και τους τοπικούς κανονισμούς σχετικά με την απόρριψη.

Οδηγίες χρήσης

Τηρείτε προσεκτικά όλες τις οδηγίες. Η μη τήρηση των οδηγιών μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβή αποτελέσματα.

Ο χρήστης πρέπει να ολοκληρώσει την εκπαίδευση πιστοποίησης χειριστή για το 3M Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης, όπως περιγράφεται στο έγγραφο «Πρωτόκολλα και οδηγίες πιστοποίησης εγκατάστασης (IQ) / πιστοποίησης λειτουργίας (OQ) για το 3M Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης»⁽⁷⁾.

Απολυμαίνετε περιοδικά τους πάγκους και τον εξοπλισμό του εργαστηρίου (πιπέτες, εργαλεία σφράγισης/ αποσφράγισης κτλ.) με διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) ή με διάλυμα απομάκρυνσης DNA.

Βλέπε την ενότητα «Ειδικές οδηγίες για επικυρωμένες μεθόδους» για τις ειδικές απαιτήσεις:

Πίνακας 3 για πρωτόκολλα εμπλουτισμού σύμφωνα με την AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

Πίνακας 4 για τα πρωτόκολλα εμπλουτισμού σύμφωνα με NF Validation certificate 3M 01/18-05/17

Εμπλουτισμός του δείγματος

Ο Πίνακας 2, 3 ή 4 αναφέρει οδηγίες για πρωτόκολλα εμπλουτισμού για τρόφιμα. Αποτελεί ευθύνη του χρήστη η επικύρωση εναλλακτικών πρωτοκόλλων δειγματοληψίας ή αναλογιών αραιώσης, προκειμένου να διασφαλιστεί ότι αυτή η μέθοδος ελέγχου πληροί τα κριτήρια του χρήστη.

Τρόφιμα

1. Προθερμάνετε το μέσο εμπλουτισμού BPW ISO στους $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$.
2. Συνδυάστε άσηπτα το μέσο εμπλουτισμού και το δείγμα, σύμφωνα με τους Πίνακες 2, 3 ή 4. Για όλα τα δείγματα κρέατος και τα δείγματα με υψηλή περιεκτικότητα σε σωματιδιακή ύλη, συνιστάται η χρήση ασκών φιλτραρίσματος.
3. Ομογενοποιήστε καλά όλες τις μήτρες, εκτός των φυλλωδών λαχανικών και φρούτων, με ανάδευση, ομογενοποίηση (διαδικασία τύπου stomaching) ή ανάμειξη με το χέρι για $2 \pm 0,2$ λεπτά. Επιάστε στους $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ για το αντίστοιχο χρονικό διάστημα, σύμφωνα με τους Πίνακες 2, 3 ή 4.

Πίνακας 2. Γενικά πρωτόκολλα εμπλουτισμού

Πίνακας δειγμάτων ^(α)	Μέγεθος δείγματος	Όγκος ζυμού εμπλουτισμού (mL)	Θερμοκρασία εμπλουτισμού ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Χρόνος εμπλουτισμού (ώρες)
Ωμό βοδινό, συμπεριλαμβανομένου κιμά και τριμμάτων	325 g	975 BPW ISO (προθερμασμένο)	41,5	10-18
Ωμό κρέας, συμπεριλαμβανομένων ωμού βοδινού, χοιρινού, πουλερικών, αρνιού και βίσωνα	25 g	225 BPW ISO (προθερμασμένο)	41,5	8-18
Φυλλώδη λαχανικά ^(β)	200 g	450 BPW ISO (προθερμασμένο)	41,5	18-24
Άλλα τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων φρούτων ^(β) , λαχανικών, χυμών φρούτων/λαχανικών, φρέσκων βοτάνων, ωμών θαλασσινών, ωμών αυγών, ωμού γάλακτος, ζύμης μπισκότων και επεξεργασμένου κρέατος	25 g	225 BPW ISO (προθερμασμένο)	41,5	18-24
Καρύδια ή μίγματα ξηρών καρπών που περιέχουν καρύδια (αυτό το πρωτόκολλο είναι κατάλληλο για άλλους ξηρούς καρπούς, όπως καρύδια πεκάν, αμύγδαλα, φιστίκια, κάσιους και κάστανα)	25 g	225 ανασυσταμένο ξηρό γάλα χωρίς λιπαρά	41,5	18-24

(α) Τα κατεψυγμένα δείγματα πρέπει να ισορροπήσουν στους $4-8^\circ\text{C}$ πριν από την προσθήκη τους στον ζυμό εμπλουτισμού.

(β) Τα δείγματα φυλλωδών λαχανικών και φρούτων πρέπει να αναταράσσονται ήπια με το χέρι για 5 λεπτά. Μην αναδεύετε και μην ομογενοποιείτε (διαδικασία τύπου stomaching).

Ειδικές οδηγίες για επικυρωμένες μεθόδους

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

Στο πρόγραμμα AOAC Official Method of AnalysisSM, η 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) κρίθηκε αποτελεσματική μέθοδος για την ανίχνευση του *E. coli* O157:H7. Οι μήτρες που ελέγχθηκαν στη μελέτη παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Πρωτόκολλα εμπλουτισμού με χρήση προθερμασμένου BPW ISO στους $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ σύμφωνα με το AOAC® *Official Methods*SM 2017.01

Πίνακας δειγμάτων	Μέγεθος δείγματος	Όγκος ζωμού εμπλουτισμού (mL)	Χρόνος εμπλουτισμού (ώρες)	Ομογενοποιημένα
Ωμός βοδινός κιμάς (73% άπαχος)	325 g	975	10-18	Διαδικασία με τα χέρια ή με διαδικασία τύπου stomaching
Ωμό σπανάκι σε σάκο ^(α)	200 g	450	18-24	Αναταράξτε απαλά με το χέρι για 5 λεπτά, μην ομογενοποιείτε
Νωποί βλαστοί	25 g	225	18-24	Αναταράξτε απαλά με το χέρι για 5 λεπτά, μην ομογενοποιείτε
Κατεψυγμένα βατόμουρα ^{(α)(β)}	25 g	225	18-24	Αναταράξτε ήπια με το χέρι για 5 λεπτά, μην ομογενοποιείτε

(α) Τα δείγματα φυλλωδών λαχανικών και φρούτων πρέπει να αναταράσσονται ήπια με το χέρι για 5 λεπτά. Μην αναδεύετε και μην ομογενοποιείτε (διαδικασία τύπου stomaching).

(β) Τα κατεψυγμένα δείγματα πρέπει να ισορροπούν στους $4-8^\circ\text{C}$ πριν από την προσθήκη τους στον ζωμό εμπλουτισμού.

NF Validation από την AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη λήξη της επικύρωσης, παρακαλούμε ανατρέξτε στο πιστοποιητικό NF VALIDATION που διατίθεται στον ιστότοπο που αναφέρεται παραπάνω.

Μέθοδος πιστοποίησης NF VALIDATION σύμφωνα με το πρότυπο ISO 16140-2⁽⁸⁾ σε σύγκριση με το πρότυπο ISO 16654⁽³⁾

Πεδίο εφαρμογής της επικύρωσης: Ωμό βοδινό κρέας, ωμά γαλακτοκομικά προϊόντα, ωμά φρούτα και λαχανικά

Προετοιμασία δείγματος: Τα δείγματα πρέπει να προετοιμάζονται σύμφωνα με τα πρότυπα EN ISO 16654 και EN ISO 6887⁽⁶⁾

Έκδοση λογισμικού: Βλ. πιστοποιητικό

Πίνακας 4. Πρωτόκολλα εμπλουτισμού με χρήση προθερμασμένου BPW ISO στους $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ σύμφωνα με τη μέθοδο πιστοποίησης NF VALIDATION 3M 01/18-05/17

Πρωτόκολλο	Μέγεθος δείγματος	Όγκος ζωμού εμπλουτισμού (mL)	Θερμοκρασία εμπλουτισμού ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Χρόνος εμπλουτισμού (ώρες)
Ωμά γαλακτοκομικά προϊόντα, ωμά φρούτα και ωμά λαχανικά	25 g	225	41,5	18-24
Ωμό βοδινό κρέας	25 g	225	41,5	8-24

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:

- Δείγματα μεγαλύτερα των 25 g δεν έχουν ελεγχθεί στη μελέτη NF VALIDATION.
- Τα προτεινόμενα από το πρωτόκολλο σημεία παρέμβασης είναι μετά τον εμπλουτισμό ή μετά από τη λύση του δείγματος. Ο ζυμός εμπλουτισμού ή το λύμα δείγματος μπορεί να φυλαχθεί στους 2-8°C για έως 72 ώρες. Αφού ο ζυμός εμπλουτισμού τεθεί εκτός φύλαξης, συνεχίστε τις δοκιμές από το Βήμα 1 στην ενότητα **Λύση**. Αφού το λύμα δείγματος τεθεί εκτός φύλαξης, συνεχίστε τις δοκιμές από το Βήμα 7 στην ενότητα **Λύση**. Το λύμα μπορεί επίσης να φυλαχθεί στους -20°C.
- Τα πρωτόκολλα σύντομου εμπλουτισμού είναι ευαίσθητα στις συνθήκες επώασης και θα πρέπει να τηρούνται οι θερμοκρασίες που ορίζονται στο πρωτόκολλο. Η θερμοκρασία του υδρόλουτρου ή του επωαστήρα όπου προθερμαίνονται οι ζυμοί θα πρέπει να επαληθεύεται, προκειμένου να διασφαλίζεται η επίτευξη της απαιτούμενης θερμοκρασίας του ζυμού εμπλουτισμού. Ο συνολικός χρόνος προετοιμασίας δείγματος, συμπεριλαμβανομένης της καθυστέρησης μεταξύ της ολοκλήρωσης του βήματος προθέρμανσης μέσου και της έναρξης επώασης του δείγματος τροφίμων δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 45 λεπτά. Προτείνεται η χρήση επωαστήρα με εξαερισμό κατά τη διάρκεια της επώασης.

Προετοιμασία του 3M™ Δίσκου Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης

1. Βρέξτε ένα πανί ή πετσέτα μίας χρήσης με διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) και σκουπίστε τον 3M Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης.
2. Ξεπλύνετε τον 3M Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης με νερό.
3. Χρησιμοποιήστε μια πετσέτα μίας χρήσης για να στεγνώσετε τον 3M Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης.
4. Διασφαλίστε ότι ο 3M Δίσκος Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης είναι στεγνός πριν τη χρήση.

Προετοιμασία του 3M™ Ένθετου Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης

Τοποθετήστε το 3M Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης απευθείας στον πάγκο του εργαστηρίου. Ο 3M Δίσκος Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης δεν χρησιμοποιείται. Χρησιμοποιήστε το ένθετο υποδοχής σωλήνων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος εργαστηρίου (20-25°C).

Προετοιμασία του 3M™ Ένθετου για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρος Μοριακής Ανίχνευσης

Τοποθετήστε το 3M Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης σε μια διπλή μονάδα υποδοχής σωλήνων ξηρής θέρμανσης. Ενεργοποιήστε τη μονάδα ξηρής θέρμανσης και ρυθμίστε τη θερμοκρασία για να επιτρέψετε στο 3M Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης να φθάσει και να διατηρήσει θερμοκρασία 100 ± 1°C.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ανάλογα με τη μονάδα θέρμανσης, αφήστε το 3M Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης να φθάσει στην κατάλληλη θερμοκρασία για περίπου 30 λεπτά. Χρησιμοποιώντας ένα κατάλληλο, βαθμονομημένο θερμόμετρο (π.χ. θερμόμετρο μερικής εμβύθισης ή ψηφιακό θερμόμετρο θερμοστοιχείου, όχι θερμόμετρο ολικής εμβύθισης) τοποθετημένο στην καθορισμένη θέση, επαληθεύστε ότι το 3M Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης βρίσκεται στους 100 ± 1°C.

Προετοιμασία του 3M™ Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης

1. Ξεκινήστε το 3M™ Λογισμικό Μοριακής Ανίχνευσης και συνδεθείτε. Επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο της 3M Food Safety για να διασφαλίσετε ότι διαθέτετε την τελευταία έκδοση του λογισμικού.
2. Ενεργοποιήστε το 3M Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης.
3. Δημιουργήστε ή επεξεργαστείτε μια διαδικασία με δεδομένα για κάθε δείγμα. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του 3M™ Συστήματος Μοριακής Ανίχνευσης για λεπτομέρειες.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το 3M Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης πρέπει να φθάσει και να διατηρήσει θερμοκρασία 60°C προτού εισαχθεί ο 3M Δίσκος Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης με τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντίδρασης. Αυτό το βήμα θέρμανσης διαρκεί περίπου 20 λεπτά και υποδεικνύεται με ένα ΠΟΡΤΟΚΑΛΙ φως στη γραμμή κατάστασης του οργάνου. Όταν το σύστημα είναι έτοιμο για να ξεκινήσει μια διαδικασία, η γραμμή κατάστασης θα γίνει ΠΡΑΣΙΝΗ.

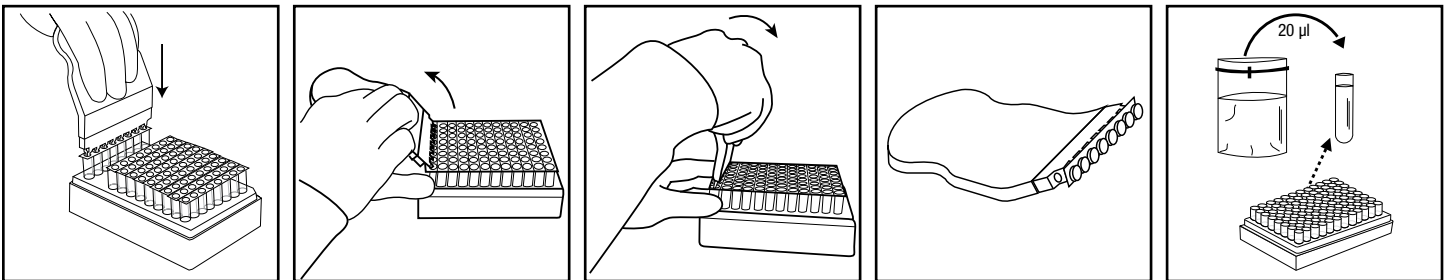
Λύση

1. Αφήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3M Διαλύματος Λύσης να θερμανθούν αφήνοντας το στατώ σε θερμοκρασία δωματίου (20-25°C) κατά τη διάρκεια της νύχτας (16-18 ώρες). Εναλλακτικές λύσεις για την εξισορρόπηση των δοκιμαστικών σωλήνων 3M Διαλύματος Λύσης σε θερμοκρασία δωματίου είναι να αφήσετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3M Διαλύματος Λύσης επάνω στον πάγκο του εργαστηρίου για τουλάχιστον 2 ώρες, να επωάσετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3M Διαλύματος Λύσης σε επωαστήρα 37 ± 1°C για 1 ώρα ή να τους τοποθετήσετε σε διπλή μονάδα υποδοχής σωλήνων ξηρής θέρμανσης για 30 δευτερόλεπτα στους 100°C.
2. Αναστρέψτε τους πωματισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες για να αναμίξετε. Προχωρήστε στο επόμενο στάδιο εντός 4 ωρών.

3. Βγάλτε το ζυμό εμπλουτισμού από τον επωαστήρα.
4. Απαιτείται ένας δοκιμαστικός σωλήνας 3Μ Διαλύματος Λύσης για κάθε δείγμα και δείγμα Αρνητικού Ελέγχου (NC) (στείρο μέσο εμπλουτισμού).
 - 4.1 Οι σειρές των δοκιμαστικών σωλήνων 3Μ Διαλύματος Λύσης μπορούν να κοπούν στον επιθυμητό αριθμό δοκιμαστικών σωλήνων 3Μ Διαλύματος Λύσης. Επιλέξτε τον αριθμό των μεμονωμένων δοκιμαστικών σωλήνων 3Μ Διαλύματος Λύσης ή τις απαιτούμενες σειρές των 8 δοκιμαστικών σωλήνων. Τοποθετήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3Μ Διαλύματος Λύσης σε ένα κενό στατώ.
 - 4.2 Για να αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση, αποσφραγίζετε μία σειρά δοκιμαστικών σωλήνων 3Μ Διαλύματος Λύσης κάθε φορά, και χρησιμοποιείτε νέο ρύγχος πιπέτας για κάθε βήμα μεταφοράς.
 - 4.3 Μεταφέρετε το εμπλουτισμένο δείγμα στους δοκιμαστικούς σωλήνες 3Μ Διαλύματος Λύσης όπως περιγράφεται παρακάτω:

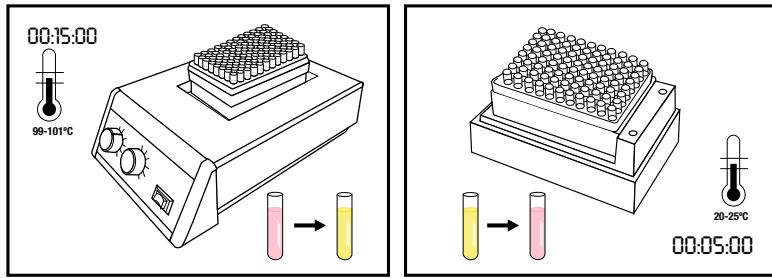
Μεταφέρετε κάθε εμπλουτισμένο δείγμα σε μεμονωμένο σωλήνα 3Μ Διαλύματος Λύσης **πρώτα**.
Μεταφέρετε τον NC **τελευταίο**.

- 4.4 Χρησιμοποιήστε το 3Μ™ Εργαλείο Σφράγισης / Αποσφράγισης - Λύσης Μοριακής Ανίχνευσης για να αποσφραγίσετε μία σειρά δοκιμαστικών σωλήνων 3Μ Διαλύματος Λύσης – μία σειρά κάθε φορά.
- 4.5 Απορρίψτε το πώμα του δοκιμαστικού σωλήνα 3Μ Διαλύματος Λύσης – εάν το λύμα πρόκειται να διατηρηθεί για επανέλεγχο, τοποθετήστε τα πώματα μέσα σε ένα καθαρό δοχείο, για εκ νέου εφαρμογή μετά τη λύση.
 - 4.5.1 Για την επεξεργασία του διατηρημένου λύματος, βλ. Παράρτημα Α.
- 4.6 Μεταφέρετε 20 µL δείγματος σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα 3Μ Διαλύματος Λύσης εκτός εάν υποδεικνύεται διαφορετικά στους Πίνακες Πρωτοκόλλου 2, 3 και 4.



5. Επαναλάβετε το βήμα 4.3 μέχρι το κάθε επιμέρους δείγμα να έχει προστεθεί σε έναν αντίστοιχο δοκιμαστικό σωλήνα 3Μ Διαλύματος Λύσης της σειράς.
6. Επαναλάβετε τα βήματα 4.1 έως 4.6 όπως απαιτείται, για τον αριθμό των δειγμάτων προς έλεγχο.
7. Όταν έχουν μεταφερθεί όλα τα δείγματα, μεταφέρετε 20 µL NC (στείρο μέσο εμπλουτισμού, π.χ. BPW ISO) μέσα σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα 3Μ Διαλύματος Λύσης. Μη χρησιμοποιείτε νερό ως NC.
8. Επαληθεύστε ότι η θερμοκρασία του 3Μ Ένθετου για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης βρίσκεται στους $100 \pm 1^\circ\text{C}$.
9. Τοποθετήστε το ακάλυπτο στατώ δοκιμαστικών σωλήνων 3Μ Διαλύματος Λύσης στο 3Μ Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης και θερμάνετε για 15 ± 1 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της θέρμανσης, το 3Μ Διάλυμα Λύσης θα αλλάξει από ροζ (ψυχρό) σε κίτρινο (θερμό).
Δείγματα που δεν έχουν υποβληθεί στην κατάλληλη θερμική επεξεργασία κατά τη διάρκεια του σταδίου λύσης της δοκιμασίας μπορούν να θεωρηθούν ως πιθανός βιολογικός κίνδυνος και ΔΕΝ πρέπει να εισάγονται στο 3Μ Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης.
10. Αφαιρέστε το ακάλυπτο στατώ των δοκιμαστικών σωλήνων 3Μ Διαλύματος Λύσης από το ένθετο θέρμανσης και αφήστε το να κρυώσει στο 3Μ Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης για τουλάχιστον 5 λεπτά και μέγιστο 10 λεπτά. Το 3Μ Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης, όταν χρησιμοποιείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς τον 3Μ Δίσκο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης, πρέπει να τοποθετηθεί απευθείας επάνω στον πάγκο του εργαστηρίου. Όταν κρυώσει, το διάλυμα λύσης θα αποκτήσει ξανά ροζ χρώμα.

11. Αφαιρέστε το στατώ των δοκιμαστικών σωλήνων 3Μ Διαλύματος Λύσης από το 3Μ Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης.



Πολλαπλασιασμός

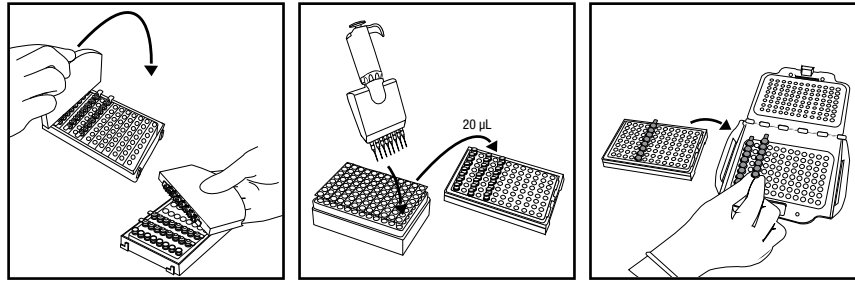
1. Απαιτείται ένας δοκιμαστικός σωλήνας αντιδραστηρίου 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) για κάθε δείγμα και τον NC.

- 1.1 Οι σειρές των δοκιμαστικών σωλήνων μπορούν να κοπούν στον επιθυμητό αριθμό δοκιμαστικών σωλήνων. Επιλέξτε τον απαιτούμενο αριθμό των μεμονωμένων δοκιμαστικών σωλήνων αντιδραστηρίου 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) ή τις απαιτούμενες σειρές των 8 δοκιμαστικών σωλήνων.
 - 1.2 Τοποθετήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) σε ένα κενό στατώ.
 - 1.3 Αποφύγετε να διαταράξετε τα σφαιρίδια του αντιδραστηρίου από τον πάτο των δοκιμαστικών σωλήνων.
2. Επιλέξτε έναν δοκιμαστικό σωλήνα 3Μ Έλεγχος Αντιδραστηρίου και τοποθετήστε τον στο στατώ.
3. Για να αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση, αποσφραγίζετε μία σειρά δοκιμαστικών σωλήνων αντιδραστηρίου 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) κάθε φορά, και χρησιμοποιείτε νέο ρύγχος πιπέτας για κάθε βήμα μεταφοράς.
4. Μεταφέρετε τα λύματα σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα αντιδραστηρίου 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) και δοκιμαστικό σωλήνα 3Μ Έλεγχος Αντιδραστηρίου, όπως περιγράφεται παρακάτω:

Μεταφέρετε κάθε λύμα δείγματος στους επιμέρους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) **πρώτα** και στη συνέχεια τον NC. Ενυδατώστε τον δοκιμαστικό σωλήνα 3Μ Έλεγχος Αντιδραστηρίου **τελευταίο**.

5. Χρησιμοποιήστε το 3Μ™ Εργαλείο Σφράγισης / Αποσφράγισης - Αντιδραστηρίου Μοριακής Ανίχνευσης για να αποσφραγίσετε μία σειρά δοκιμαστικών σωλήνων αντιδραστηρίου της 3Μ Διαδικασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) κάθε φορά. Απορρίψτε το πώμα.
- 5.1 **Μεταφέρετε 20 µL του λύματος δείγματος από το επάνω ½ του υγρού (αποφύγετε το ίζημα) του δοκιμαστικού σωλήνα 3Μ Διαλύματος Λύσης στον αντίστοιχο δοκιμαστικό σωλήνα αντιδραστηρίου 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7). Χορηγήστε υπό γωνία για να αποφύγετε να διαταράξετε τα σφαιρίδια. Αναμίξτε πιπετάροντας προσεκτικά πάνω-κάτω 5 φορές.**
 - 5.2 Επαναλάβετε το βήμα 5.1 μέχρι το επιμέρους λύμα δείγματος να έχει προστεθεί σε έναν αντίστοιχο δοκιμαστικό σωλήνα Αντιδραστηρίου 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) στην ταινία.
 - 5.3 Καλύψτε τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) με τα παρεχόμενα επιπλέον πώματα και χρησιμοποιήστε τη στρογγυλευμένη πλευρά του 3Μ Εργαλείου Σφράγισης / Αποσφράγισης - Αντιδραστηρίου Μοριακής Ανίχνευσης για να ασκήσετε πίεση με μια κίνηση εμπρός-πίσω, διασφαλίζοντας ότι το πώμα έχει εφαρμοστεί σφιχτά.
 - 5.4 Επαναλάβετε τα βήματα 5.1 έως 5.3 όπως απαιτείται, για τον αριθμό των δειγμάτων που είναι προς έλεγχο.
 - 5.5 Όταν έχουν μεταφερθεί όλα τα λύματα δείγματος, επαναλάβετε τα βήματα 5.1 έως 5.3 για να μεταφέρετε 20 µL του λύματος NC μέσα σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7).
 - 5.6 Μεταφέρετε **20 µL του λύματος NC μέσα σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα 3Μ Έλεγχος Αντιδραστηρίου**. Χορηγήστε υπό γωνία για να αποφύγετε να διαταράξετε τα σφαιρίδια. Αναμίξτε πιπετάροντας προσεκτικά πάνω-κάτω 5 φορές.

6. Φορτώστε τους σφραγισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες σε έναν καθαρό και απολυμασμένο 3M Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης. Στη συνέχεια, κλείστε και ασφαλίστε το καπάκι.



7. Επιθεωρήστε και επιβεβαιώστε τη διαμορφωμένη διαδικασία στο 3M Λογισμικό Μοριακής Ανίχνευσης.
 8. Κάντε κλικ στο κουμπί Έναρξη στο λογισμικό και επιλέξτε το όργανο που θα χρησιμοποιηθεί. Το καπάκι του επιλεγμένου οργάνου ανοίγει αυτόματα.
 9. Τοποθετήστε τον 3M Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης μέσα στο 3M Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης και κλείστε το καπάκι για να ξεκινήσετε τη δοκιμασία. Τα αποτελέσματα παρέχονται εντός 60 λεπτών, αν και τα θετικά μπορεί να ανιχνευθούν νωρίτερα.
 10. Αφού ολοκληρωθεί η δοκιμασία, αφαιρέστε τον 3M Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης από το 3M Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης και απορρίψτε τους δοκιμαστικούς σωλήνες μουλιάζοντάς τους σε διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) για 1 ώρα και μακριά από την περιοχή προετοιμασίας της δοκιμασίας.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων λόγω διασταυρούμενης μόλυνσης, ποτέ μην ανοίγετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίων που περιέχουν πολλαπλασιασμένο DNA. Αυτό περιλαμβάνει τον 3M Έλεγχο Αντιδραστηρίου, τον δοκιμαστικό σωλήνα αντιδραστηρίου 3M Διαδικασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) και τους 3M Δοκιμαστικούς Σωλήνες Πίνακα Ελέγχου. Απορρίπτετε πάντοτε τους σφραγισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου μουλιάζοντάς τους σε διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) για 1 ώρα και μακριά από την περιοχή προετοιμασίας της δοκιμασίας.

Αποτελέσματα και ερμηνεία

Ένας αλγόριθμος ερμηνεύει την καμπύλη παροχής φωτός που προκύπτει από την ανίχνευση του πολλαπλασιασμού των νουκλεϊνικών οξέων. Τα αποτελέσματα αναλύονται αυτόματα από το λογισμικό και κωδικοποιούνται χρωματικά με βάση το αποτέλεσμα. Ένα θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα καθορίζεται μέσω ανάλυσης ενός αριθμού μοναδικών παραμέτρων της καμπύλης. Τα υποθετικά θετικά αποτελέσματα αναφέρονται σε πραγματικό χρόνο, ενώ τα αρνητικά και τα αποτελέσματα Προς Επιθεώρηση εμφανίζονται μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας.

Τα υποθετικά θετικά δείγματα πρέπει να επιβεβαιώνονται σύμφωνα με τις σύνηθες διαδικασίες λειτουργίας του εργαστηρίου ή ακολουθώντας την κατάλληλη επιβεβαίωση μεθόδου αναφοράς^(1,2,3), αρχίζοντας με τη μεταφορά από τον πρωτογενή εμπλουτισμό BPW ISO σε δευτερογενή/-εις ζυμό/-ούς εμπλουτισμού και στη συνέχεια επίστρωση και επιβεβαίωση των απομονώσεων χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες βιοχημικές και οροδιαγνωστικές μεθόδους.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ακόμα και ένα αρνητικό δείγμα δεν θα δώσει μηδενική ένδειξη, καθώς το σύστημα και τα αντιδραστήρια ενίσχυσης 3M Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) έχουν μια σχετική μονάδα φωτός (RLU) «υπόβαθρου».

Στη σπάνια περίπτωση ασυνήθιστου φωτισμού, ο αλγόριθμος το επισημαίνει ως «Προς Επιθεώρηση». Η 3M συνιστά στο χρήστη να επαναλάβει τη δοκιμασία για όλα τα δείγματα Προς Επιθεώρηση. Εάν το αποτέλεσμα συνεχίζει να είναι Προς Επιθεώρηση, προχωρήστε στον έλεγχο επιβεβαίωσης χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που προτιμάτε ή όπως καθορίζεται από τους τοπικούς κανονισμούς.

Στην περίπτωση ασυμφωνίας των αποτελεσμάτων (υποθετικά θετικά με την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7), που δεν έχουν επιβεβαιωθεί με έναν από τους τρόπους που περιγράφονται παραπάνω και συγκεκριμένα με λατεξ τεστ συγκόλλησης), το εργαστήριο πρέπει να ακολουθήσει τα απαραίτητα βήματα ώστε να διασφαλίσει την εγκυρότητα των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται.

Επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων σύμφωνα με τη μέθοδο πιστοποίησης NF VALIDATION

Στο πλαίσιο της NF VALIDATION, όλα τα δείγματα που αναγνωρίζονται ως θετικά από την 3M Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον H7) πρέπει να επιβεβαιώνονται με τα παρακάτω τεστ:

Επιλογή 1: Χρησιμοποιώντας το πρότυπο ISO 16654⁽³⁾, ξεκινώντας από τον εμπλουτισμό του ρυθμιστικού νερού πεπτόνης⁽³⁾.

Επιλογή 2: Εφαρμόζοντας μια μέθοδο επιβεβαίωσης που αποτελείται από τα εξής: Προσθέστε 50 µL του εμπλουτισμού ρυθμιστικού νερού πεπτόνης⁽³⁾ σε ένα πλακίδιο Cefixime Potassium Tellurite Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾. Επώαστε για 24 ± 3 ώρες στους 37°C. Βάλτε χαρακτηριστικές αποικίες σε θρεπτικό άγαρ και πραγματοποιήστε λάτεξ τεστ συγκόλλησης απευθείας στις απομονωμένες αποικίες. Εάν τα αποτελέσματα της 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον Η7) δεν επαληθευτούν, πραγματοποιήστε ένα στάδιο ανοσομαγνητικού διαχωρισμού και προσθέστε 50 µL στο CT-SMAC.

Επιλογή 3: Χρησιμοποιώντας ανιχνευτές νουκλεϊνικών οξέων, όπως περιγράφεται στο πρότυπο EN ISO 7218⁽⁵⁾, πραγματοποιούνται σε απομονωμένες αποικίες (καθαρές ή μη) από το CT-SMAC (βλ. Επιλογή 1 ή 2). Οι ανιχνευτές νουκλεϊνικών οξέων πρέπει να διαφέρουν από αυτούς που χρησιμοποιήθηκαν στην 3Μ Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον Η7).

Επιλογή 4: Χρησιμοποιώντας οποιαδήποτε άλλη μέθοδο πιστοποίησης NF VALIDATION, η αρχή της οποίας πρέπει να διαφέρει από αυτήν της 3Μ Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *E. coli* O157 (εμπεριέχον Η7). Πρέπει να χρησιμοποιείται το πλήρες πρωτόκολλο που περιγράφεται για αυτήν τη δεύτερη μέθοδο επικύρωσης. Όλα τα βήματα πριν από την έναρξη της επιβεβαίωσης πρέπει να είναι κοινά και στις δύο μεθόδους.

Στην περίπτωση ασυμφωνίας των αποτελεσμάτων (υποθετικά θετικά με την εναλλακτική μέθοδο, που δεν έχουν επιβεβαιωθεί με έναν από τους τρόπους που περιγράφονται παραπάνω), το εργαστήριο πρέπει να ακολουθήσει τα απαραίτητα βήματα για να διασφαλίσει την εγκυρότητα του αποτελέσματος που λαμβάνεται.

Εάν έχετε ερωτήσεις σχετικά με συγκεκριμένες εφαρμογές ή διαδικασίες, παρακαλούμε επισκεφθείτε την ιστοσελίδα www.3M.com/foodsafety ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της 3Μ.

Παράρτημα Α. Διακοπή πρωτοκόλλου: Φύλαξη και επανέλεγχος δειγμάτων

1. Για να αποθηκεύσετε ένα θερμικά επεξεργασμένο λύμα, επαναπωματίστε το δοκιμαστικό σωλήνα λύσης με ένα καθαρό πώμα (βλ. ενότητα **Λύση**, 4.5).
2. Για να αποθηκεύσετε ένα εμπλουτισμένο δείγμα, επώαστε για τουλάχιστον 18 ώρες πριν από τη φύλαξη.
3. Αποθηκεύστε στους 4 έως 8°C για έως 72 ώρες.
4. Προετοιμάστε ένα αποθηκευμένο δείγμα για πολλαπλασιασμό αναστρέφοντας 2-3 φορές για να αναμίξετε.
5. Αφαιρέστε το πώμα από τους δοκιμαστικούς σωλήνες.
6. Τοποθετήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες με το αναμεμιγμένο λύμα στο 3Μ Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης και θερμάνετε στους 100 ± 1°C για 5 ± 1 λεπτά.
7. Αφαιρέστε το στατώ των δοκιμαστικών σωλήνων 3Μ Διαλύματος Λύσης από το ένθετο θέρμανσης και αφήστε το να κρυσώσει στο 3Μ Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης για τουλάχιστον 5 λεπτά και μέγιστο 10 λεπτά.
8. Συνεχίστε με το πρωτόκολλο στην ενότητα **Πολλαπλασιασμός** που περιγράφεται λεπτομερώς παραπάνω.

Παραπομπές:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Επεξήγηση συμβόλων

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Informacje o produkcie

Molekularny test do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7)

Opis i przeznaczenie produktu

Molekularny test 3M™ do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) stosuje się razem z Systemem 3M™ do diagnostyki molekularnej w celu szybkiego i swoistego wykrywania bakterii *E. coli* O157 (w tym H7) w przednamnożonych próbkach żywności i pasz.

Molekularny test 3M do wykrywania wykorzystuje metodę pętlowej amplifikacji izotermicznej do szybkiego namnażania sekwencji kwasów nukleinowych z zachowaniem wysokiej swoistości i czułości, w połączeniu z bioluminescencją do wykrywania amplifikacji. Domniemane wyniki dodatnie przekazuje się w czasie rzeczywistym, zaś wyniki ujemne wyświetlą się po zakończeniu testu. Domniemane wyniki dodatnie wymagają potwierdzenia preferowaną metodą lub metodą wynikającą z lokalnych przepisów^(1, 2, 3).

Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) jest przeznaczony do stosowania w środowisku laboratoryjnym przez specjalistów przeszkolonych w zakresie praktyk laboratoryjnych. Firma 3M nie udokumentowała zastosowania tego produktu w gałęziach przemysłu innych niż żywność i napoje. Przykładowo firma 3M nie udokumentowała zastosowania tego produktu do badania próbek środowiskowych, leków, kosmetyków, próbek klinicznych ani weterynaryjnych. Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) nie oceniono pod kątem wszystkich możliwych produktów spożywczych, procesów przetwarzania żywności, protokołów testowych ani w przypadku wszystkich dostępnych szczepów bakterii.

Podobnie jak w przypadku wszystkich metod testowych, pochodzenie, skład i jakość podłoża przednamnażającego może mieć wpływ na otrzymywane wyniki. Czynniki takie jak metody pobierania próbek, protokoły przeprowadzania badań, przygotowanie próbki, postępowanie i techniki laboratoryjne również mogą wpłynąć na wynik badania. Firma 3M zaleca ocenienie metody wykorzystującej podłoża przednamnażające w środowisku użytkownika, stosując wystarczającą liczbę próbek konkretnej żywności oraz próbek problematycznych pod względem rozwoju drobnoustrojów, aby zapewnić, że dana metoda spełnia potrzeby użytkownika.

Firma 3M dokonała oceny Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) z zastosowaniem buforowanej wody peptonowej wg ISO.

Urządzenie 3M™ do diagnostyki molekularnej należy stosować z próbkami poddanymi obróbce cieplnej na etapie lizy, której zadaniem jest zniszczenie organizmów obecnych w próbce. Probki, które nie przeszły odpowiedniej obróbki cieplnej na etapie lizy, można uznać za potencjalne zagrożenie biologiczne i NIE należy ich umieszczać w Urządzeniu 3M do diagnostyki molekularnej.

Firma 3M Food Safety została wyróżniona certyfikatem ISO (ang. International Organization for Standardization — Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna) 9001 w zakresie projektowania i wytwarzania.

Zestaw testów Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) zawiera 96 testów opisanych w Tabeli 1.

Tabela 1. Elementy zestawu testów Molekularny test 3M do wykrywania

Element	Charakterystyka	Liczba sztuk	Zawartość	Komentarze
Roztwór lizujący 3M™ (LS)	Różowy roztwór w przezroczystych probówkach	96 (12 taśm z 8 probówkami)	580 µl roztworu lizującego 3M na probówkę	Ustawione w statywie i gotowe do użytku
Probówki reagentowe Molekularnego testu 3M™ do wykrywania 2 – <i>E. coli</i> O157 (w tym H7)	Różowe probówki	96 (12 taśm z 8 probówkami)	Liofilizowana swoista mieszanina do amplifikacji i wykrywania	Gotowe do użycia
Dodatkowe korki	Różowe korki	96 (12 taśm z 8 korkami)		Gotowe do użycia
Kontrola 3M™ reagenta (RC)	Przezroczyste probówki z korkiem zatrzaskowym	16 (2 woreczki po 8 oddzielnych probówek)	Liofilizowane DNA kontrolne, mieszanina do amplifikacji i wykrywania	Gotowe do użycia
Skrócona instrukcja obsługi		1		

Kontrola ujemna, niebędąca częścią zestawu, to jałowe podłoża przednamnażające, np. BPW wg ISO. Nie stosować wody jako kontroli ujemnej.

Bezpieczeństwo

Użytkownik powinien dokładnie zapoznać się ze wszystkimi informacjami dotyczącymi bezpieczeństwa zawartymi w instrukcji dotyczącej Systemu 3M do diagnostyki molekularnej oraz Molekularnych testów 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7). Instrukcję bezpieczeństwa należy zachować do przyszłego wykorzystania.

⚠ OSTRZEŻENIE: Oznacza niebezpieczną sytuację, której skutkiem, w razie braku podjęcia środków zapobiegawczych, mogą być poważne obrażenia ciała lub śmierć i/lub uszkodzenie mienia.

WAŻNA INFORMACJA: Oznacza potencjalnie niebezpieczną sytuację, której skutkiem, w razie niepodjęcia środków zapobiegawczych, może być uszkodzenie mienia.

⚠ OSTRZEŻENIE

Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) nie należy stosować do diagnozowania ludzi ani zwierząt.

Obowiązkiem użytkownika jest przeszkolenie personelu w zakresie aktualnych, odpowiednich technik badań: na przykład w zakresie dobrych praktyk laboratoryjnych, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ lub ISO 7218⁽⁵⁾.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z wynikiem fałszywie ujemnym prowadzącym do wydania zanieczyszczonego produktu:

- Należy postępować zgodnie z protokołem i wykonywać testy zgodnie z zaleceniami podanymi w Informacjach o produkcie.
- Należy stosować podłoże wstępnie ogrzane do temperatury $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$. Nie należy dopuścić do spadku temperatury podłoża poniżej zakresu temperatury inkubacji podczas przygotowywania próbki.
- Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) należy przechowywać w sposób podany na opakowaniu i w Informacjach o produkcie.
- Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) należy stosować wyłącznie przed upływem terminu ważności.
- Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) należy wykorzystać do badania próbek żywności, paszy i środowiska przetwarzania żywności, które poddano walidacji wewnętrznej lub przez osoby trzecie.
- Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) należy stosować wyłącznie w odniesieniu do powierzchni, środków odkażających, protokołów i szczepów bakterii poddanych walidacji wewnętrznej lub przez osoby trzecie.
- W przypadku próbki środowiskowej zawierającej bufor neutralizujący (NB) z kompleksem sulfonianu arylu przed rozpoczęciem badania należy przygotować roztwór rozcieńczony w stosunku 1:2 (1 część próbki w 1 części jałowego bulionu przednamnażającego). Inną możliwością jest przeniesienie 10 μl przednamnażającego buforu neutralizującego do probówek z roztworem lizującym 3M. Produkty firmy 3M™ do postępowania z próbkami, które zawierają bufor neutralizujący z kompleksem sulfonianu arylu 3M™: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB i HS119510NB.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z narażeniem na substancje chemiczne i zagrożenia biologiczne:

- Badania patogenów należy prowadzić w odpowiednio wyposażonym laboratorium pod kontrolą przeszkolonego personelu. Inkubowane podłoże do przednamnażania oraz sprzęt lub powierzchnie, które mogły mieć kontakt z inkubowanym podłożem do przednamnażania, mogą zawierać patogeny na poziomie zagrażającym ludzkiemu zdrowiu.
- Należy zawsze przestrzegać standardowych laboratoryjnych praktyk bezpieczeństwa, łącznie z noszeniem odpowiedniej odzieży i okularów ochronnych przy pracy z reagentami i skażonymi próbkami.
- Należy unikać kontaktu z zawartością probówek z podłożem przednamnażającym oraz reagentem po amplifikacji.
- Należy utylizować przednamnażone próbki i związane z nimi zanieczyszczone odpady zgodnie z obowiązującymi normami lokalnymi/regionalnymi/krajowymi/branżowymi.
- Nie przekraczać zalecanych ustawień temperatury w bloku grzewczym.
- Nie przekraczać zalecanego czasu ogrzewania.
- Stosować odpowiedni, skalibrowany termometr do potwierdzenia poprawności temperatury Wkładki 3M™ bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej (np. termometr zanurzeniowy zanurzany częściowo lub cyfrowy termometr z termoogniwem, ale nie termometr zanurzeniowy zanurzany całkowicie). Termometr należy umieścić w wyznaczonym miejscu Wkładki 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z zanieczyszczeniem krzyżowym podczas przygotowania testu:

- Należy zawsze nosić rękawiczki (aby chronić użytkownika i zapobiegać wprowadzaniu nukleaz).

Aby zmniejszyć ryzyko związane z narażeniem na gorące płyny:

- Nie przekraczać zalecanych ustawień temperatury w bloku grzewczym.
- Nie przekraczać zalecanego czasu ogrzewania.
- Stosować odpowiedni, skalibrowany termometr do potwierdzenia poprawności temperatury Wkładki 3M™ bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej (np. termometr zanurzeniowy zanurzany częściowo lub cyfrowy termometr z termoogniwem, ale nie termometr zanurzeniowy zanurzany całkowicie). Termometr należy umieścić w wyznaczonym miejscu Wkładki 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej.

WAŻNA INFORMACJA

Aby zmniejszyć ryzyko związane z zanieczyszczeniem krzyżowym podczas przygotowania testu:

- Zaleca się stosowanie jałowych końcówek pipet do biologii molekularnej z (filtrowaną) barierą aerozolową.
- Do przeniesienia każdej próbki używać nowej końcówki pipety.
- Przy przenoszeniu przednamnożonych próbek do próbki lizującej należy przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Aby uniknąć skażenia pipetora, użytkownik może zdecydować się dodać etap transferu pośredniego. Przykładowo można przenieść przednamnożoną próbkę do jałowej próbki.
- W miarę możliwości należy używać stanowiska badawczego biologii molekularnej z lampą bakteriobójczą.

Aby ograniczyć ryzyko związane z wynikiem fałszywie dodatnim:

- Nie otwierać próbek po procesie amplifikacji.
- Zanieczyszczone próbki należy utylizować, namaczając je w 1–5% (obj./obj., wodnym) roztworze domowego wybielacza przez 1 godzinę i wnosząc poza obszar przygotowania testów.

Dodatkowe informacje oraz lokalne przepisy dotyczące utylizacji zawiera karta charakterystyki produktu.

W przypadku pytań dotyczących konkretnych zastosowań lub procedur należy odwiedzić stronę www.3M.com/foodsafety lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy 3M.

Obowiązki użytkownika

Użytkownicy są zobowiązani do zapoznania się z instrukcjami oraz informacjami dotyczącymi produktu. W celu uzyskania dalszych informacji należy odwiedzić stronę internetową www.3M.com/foodsafety lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy 3M.

Przy wyborze metody testowania należy pamiętać, że takie czynniki zewnętrzne, jak metody próbkowania, protokoły testowania, przygotowanie próbki, dalsze postępowanie i technika laboratoryjna mogą wpływać na uzyskiwane wyniki.

Obowiązkiem użytkownika przy wyborze jakiegokolwiek metody testowania lub produktu jest poddanie ocenie dostatecznej liczby próbek z właściwymi macierzami i z uwzględnieniem zagrożeń powodowanych przez mikroorganizmy, tak aby zastosowana metoda mogła spełnić oczekiwania użytkownika i ustalone przez niego kryteria.

Obowiązkiem użytkownika jest również dopilnowanie, aby zastosowane metody testowania i uzyskane wyniki spełniały wymagania klienta i dostawcy.

Podobnie jak w przypadku każdej metody testowania wyniki uzyskiwane za pomocą produktu firmy 3M Food Safety nie stanowią gwarancji jakości testowanych macierzy ani procesów.

Aby pomóc klientom ocenić metodę dla różnych typów macierzy spożywczych, firma 3M opracowała zestaw Kontroli 3M™ macierzy do diagnostyki molekularnej. W razie potrzeby należy użyć zestawu kontroli macierzy (MC) do ustalenia, czy dany typ próbki może wpływać na wyniki badania testem 3M Molekularny test do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7). Należy przetestować kilka próbek reprezentatywnych dla danej macierzy, czyli na przykład próbki pozyskane z różnych źródeł, podczas dowolnego okresu walidacji przy stosowaniu metody firmy 3M, a także podczas testowania nowych lub nieznanymi macierzy albo macierzy, które zostały poddane zmianom (w zakresie procesowym lub surowcowym).

Macierz można zdefiniować jako typ produktu o nieodłącznych właściwościach, takich jak skład i proces wytwarzania. Różnice pomiędzy macierzami mogą być łatwo zauważalne, jak np. efekty spowodowane różnicami w procedurach obróbki lub prezentacji, przykładowo surowe lub pasteryzowane, świeże lub suszone itd.

Wyłączenia gwarancji / Ograniczone środki zaradcze

JESLI NIE ZOSTAŁO TO WYRAŹNIE OKREŚLONE W ROZDZIALE DOT. OGRANICZONEJ GWARANCJI POJEDYNCZYCH OPAKOWAŃ PRODUKTÓW, FIRMA 3M WYŁĄCZA WSZELKIE GWARANCJE WYRAŹNE I DOROZUMIANE, W TYM MIĘDZY INNYMI WSZELKIE GWARANCJE ZGODNOŚCI Z PRZEZNACZENIEM I PRZYDATNOŚCI DO OKREŚLONEGO CELU. W razie wad jakiegokolwiek produktu firmy 3M Food Safety firma 3M lub jej autoryzowany dystrybutor wymieni taki produkt lub, wedle własnego uznania, zwróci koszty zakupu tego produktu. Są to jedyne przysługujące środki zaradcze. W ciągu 60 dni od wykrycia jakiegokolwiek podejrzanego wady produktu należy niezwłocznie powiadomić firmę 3M oraz zwrócić produkt. W celu uzyskania informacji na temat procedury zwrotu towarów (RGA) należy skontaktować się z biurem obsługi klienta (1-800-328-1671 na terenie USA) lub z oficjalnym przedstawicielem ds. bezpieczeństwa żywności firmy 3M.

Ograniczenie odpowiedzialności firmy 3M

FIRMA 3M NIE BĘDZIE ODPOWIEDZIALNA ZA JAKIEKOLWIEK SZKODY ANI STRATY, ZARÓWNO BEZPOŚREDNIE, POŚREDNIE, SZCZEGÓLNE, UBOCZNE LUB NASTĘPCZE, W TYM MIĘDZY INNYMI ZA UTRACONE ZYSKI. W żadnym wypadku odpowiedzialność firmy 3M z mocy prawa nie może przekroczyć ceny zakupu rzekomo wadliwego produktu.

Przechowywanie i utylizacja

Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. Nie zamrażać. Podczas przechowywania chronić zestaw przed światłem. Po otwarciu zestawu należy sprawdzić, czy woreczek foliowy nie jest uszkodzony. Nie używać zestawu, jeżeli woreczek jest uszkodzony. Po otwarciu nieużywane próbówki z reagentem należy przechowywać w woreczku wielokrotnego zamknięcia z pochłaniaczem wilgoci wewnątrz, co pozwoli zachować stabilność liofilizowanych reagentów. Ponownie zamknięte woreczki można przechowywać w temperaturze 2–8°C maksymalnie przez 60 dni.

Nie stosować Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) po upływie daty ważności. Termin ważności i numer partii podano na zewnętrznej etykiecie pudełka. Po użyciu podłoże przednamnażające i próbówki Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) mogą zawierać materiały patogenne. Po zakończeniu badania należy stosować się do aktualnych standardów branżowych dotyczących utylizacji zanieczyszczonych odpadów. Dodatkowe informacje oraz lokalne przepisy dotyczące utylizacji zawiera karta charakterystyki produktu.

Instrukcja użycia

Należy dokładnie przestrzegać wszystkich instrukcji. W przeciwnym razie wyniki mogą być niedokładne.

Użytkownik powinien ukończyć szkolenie kwalifikacyjne dla operatorów Systemu 3M do diagnostyki molekularnej, tak jak opisano to w dokumencie „Instrukcje i protokoły dotyczące wymagań instalacji (IQ) / kwalifikacji operacyjnej (OQ) systemu 3M do diagnostyki molekularnej”⁽⁷⁾.

Należy okresowo dezynfekować stoły i sprzęt laboratoryjny (pipety, narzędzia do zakładania/zdejmowania korków itp.) za pomocą 1–5% (obj./obj., wodnego) roztworu domowego wybielacza lub roztworu do usuwania DNA.

Szczegółowe wymagania opisano w części „Specjalne instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod”:

Tabela 3 – protokoły przednamnażania według AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

Tabela 4 – protokoły przednamnażania zgodnie z certyfikatem NF Validation 3M 01/18-05/17

Przednamnażanie próbki

Tabele 2, 3 lub 4 zawierają wytyczne dotyczące protokołów przednamnażania żywności. Użytkownik ma obowiązek przeprowadzić walidację alternatywnych protokołów próbkowania lub proporcji roztworów, aby sprawdzić, czy dana metoda badawcza spełnia kryteria określone przez użytkownika.

Żywność

1. Wstępnie ogrzać podłoże do przednamnażania BPW wg ISO do temperatury 41,5 ± 1°C.
2. Aseptycznie połączyć podłoże do przednamnażania z próbką zgodnie z Tabelą 2, 3 lub 4. W przypadku wszystkich próbek produktów mięsnych lub innych o wysokiej zawartości cząstek stałych zaleca się stosowanie worków z filtrem.
3. Dokładnie zhomogenizować wszystkie macierze z wyjątkiem produktów liściastych i owoców poprzez zmieszanie, homogenizowanie lub mieszanie ręczne przez 2 ± 0,2 minuty. Inkubować w temperaturze 41,5 ± 1°C przez odpowiedni czas zgodnie z Tabelą 2, 3 lub 4.

Tabela 2. Ogólne protokoły przednamnażania

Macierz próbki ^(a)	Wielkość próbki	Objętość bulionu do przednamnażania (ml)	Temperatura przednamnażania (± 1°C)	Czas przednamnażania (godz.)
Surowe mięso wołowe, w tym mięso mielone i skrawki	325 g	975 BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	10–18
Surowe mięso, w tym surowe mięso wołowe, wieprzowe, drobiowe, jagnięce i bawole	25 g	225 BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	8–18
Produkty liściaste ^(b)	200 g	450 BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	18–24
Pozostała żywność, w tym owoce ^(b) , warzywa, soki owocowe/warzywne, świeże zioła, surowe owoce morza, surowe jaja, surowe mleko, surowe ciasto i przetworzone produkty mięsne	25 g	225 BPW wg ISO (wstępnie ogrzanego)	41,5	18–24

Orzechy włoskie lub mieszanki orzechów zawierające orzechy włoskie (ten protokół jest odpowiedni dla innych orzechów, w tym orzechów pekan, migdałów, pistacji, orzechów nerkowca i kasztanów)	25 g	225 przygotowanego odtłuszczonego mleka w proszku	41,5	18–24
--	------	---	------	-------

- (a) Temperaturę zamrożonych próbek należy zrównoważyć do 4–8°C przed dodaniem do bulionu przednamnażającego.
- (b) Próbkę produktów liściastych i owoców należy delikatnie wstrząsać ręcznie przez 5 minut. Nie mieszać ani nie wytrząsać.

Specjalne instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod

AOAC® *Official Methods of Analysis*SM 2017.01

W ramach programu AOAC *Official Method of Analysis*SM Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) okazał się być skuteczną metodą wykrywania bakterii *E. coli* O157:H7. W Tabeli 3 przedstawiono macierze przetestowane w ramach tego badania.

Tabela 3. Protokoły przednamnażania wykorzystujące podłoże BPW wg ISO wstępnie ogrzane do temperatury 41,5 ± 1°C według AOAC® *Official Methods*SM 2017.01

Macierz próbki	Wielkość próbki	Objętość bulionu do przednamnażania (ml)	Czas przednamnażania (godz.)	Homogenizowanie
Surowe mielone mięso wołowe (73% chudego mięsa)	325 g	975	10–18	Ręcznie lub przez wytrząsanie
Pakowany surowy szpinak ^(a)	200 g	450	18–24	Delikatne mieszanie ręcznie przez 5 minut, bez homogenizowania
Świeże kietki	25 g	225	18–24	Delikatne mieszanie ręcznie przez 5 minut, bez homogenizowania
Mrożone borówki amerykańskie ^{(a)(b)}	25 g	225	18–24	Delikatne mieszanie ręcznie przez 5 minut, bez homogenizowania

- (a) Próbkę produktów liściastych i owoców należy delikatnie wstrząsać ręcznie przez 5 minut. Nie mieszać ani nie wytrząsać.
- (b) Temperaturę zamrożonych próbek należy zrównoważyć do 4–8°C przed dodaniem do bulionu przednamnażającego.

Certyfikacja NF Validation instytutu AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Dodatkowe informacje na temat końca ważności można znaleźć w certyfikacie NF VALIDATION dostępnym na wskazanej powyżej stronie internetowej.

Metoda certyfikowana według NF VALIDATION zgodnie z normą ISO 16140-2⁽⁸⁾ w porównaniu do normy ISO 16654⁽³⁾

Zakres zatwierdzenia: Surowe mięso wołowe, surowe produkty mleczne, surowe owoce i warzywa

Przygotowanie próbki: Próbki należy przygotować zgodnie z normą EN ISO 16654 i EN ISO 6887⁽⁶⁾

Wersja oprogramowania: Patrz certyfikat

Tabela 4. Protokoły przednamnażania wykorzystujące podłoże BPW wg ISO wstępnie ogrzane do temperatury $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ według NF VALIDATION certified method 3M 01/18-05/17

Protokół	Wielkość próbki	Objętość bulionu do przednamnażania (ml)	Temperatura przednamnażania ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Czas przednamnażania (godz.)
Surowe produkty mleczne, surowe owoce i surowe warzywa	25 g	225	41,5	18–24
Surowe mięso wołowe	25 g	225	41,5	8–24

UWAGI:

- Próbki o wielkości przekraczającej 25 g nie były badane w badaniu według NF VALIDATION.
- Zalecane momenty przerywania protokołu występują po etapie przednamnażania lub przed lizą próbki. Bulion z przednamnożoną próbką lub próbkę lizatu można przechowywać w temperaturze $2-8^\circ\text{C}$ przez maksymalnie 72 godziny. Po wyjęciu bulionu przednamnażającego z przechowywania należy wznowić testy od kroku 1 części **Liza**. Po wyjęciu próbki lizatu z przechowywania należy wznowić testy od kroku 7 części **Liza**. Próbkę lizatu można też przechowywać w temperaturze -20°C .
- Protokoły krótkiego przednamnażania są wrażliwe na warunki inkubacji, w związku z czym należy przestrzegać temperatur określonych w protokole. Temperaturę kąpeli wodnej lub inkubatora, w których buliony są wstępnie ogrzewane, należy zweryfikować, aby upewnić się, że bulion przednamnażający osiąga wymaganą temperaturę. Całkowity czas przygotowania próbki, w tym opóźnienie między zakończeniem kroku wstępnego ogrzewania podłoża i rozpoczęciem inkubacji próbki żywności, nie może przekroczyć 45 minut. Podczas inkubacji zaleca się stosowanie wentylowanego inkubatora.

Przygotowanie Tacy 3M™ urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej

1. Zmoczyć szmatkę lub jednorazowy ręcznik 1–5% (obj./obj., wodnym) roztworem wybielacza do użytku domowego i przetrzeć nim Tacę 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej.
2. Spłukać wodą Tacę 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej.
3. Osuszyć Tacę 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej za pomocą jednorazowego ręcznika.
4. Przed rozpoczęciem użytkowania należy sprawdzić, czy Taca 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej jest sucha.

Przygotowanie Wkładki 3M™ bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej

Wkładkę 3M bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej należy umieścić bezpośrednio na blacie laboratoryjnym: Taca 3M bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej nie będzie potrzebna. Stosować blok w temperaturze otoczenia w laboratorium ($20-25^\circ\text{C}$).

Przygotowanie Wkładki 3M™ bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej

Wkładkę 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej należy umieścić w suchym podwójnym bloku grzewczym. Włączyć suchy blok grzewczy i ustawić temperaturę pozwalającą Wkładce 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej osiągnąć i utrzymać temperaturę $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

UWAGA: W zależności od typu bloku grzewczego Wkładkę 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej należy zostawić na około 30 minut, by osiągnęła odpowiednią temperaturę. Używając odpowiedniego, skalibrowanego termometru (przykładowo częściowo zanurzanego termometru lub cyfrowego termometru z termoogniwem, a nie całkowicie zanurzanego termometru) umieszczonego w wyznaczonym miejscu, sprawdzić, czy temperatura Wkładki 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej wynosi $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

Przygotowanie Urządzenia 3M™ do diagnostyki molekularnej

1. Uruchomić oprogramowanie 3M™ do diagnostyki molekularnej i zalogować się. Skontaktować się z przedstawicielem 3M Food Safety, aby upewnić się, że dysponują Państwo najnowszą wersją oprogramowania.
2. Włączyć Urządzenie 3M do diagnostyki molekularnej.
3. Utworzyć lub edytować serię z danymi dla każdej próbki. Szczegółowe informacje są dostępne w instrukcji obsługi Systemu 3M™ do diagnostyki molekularnej.

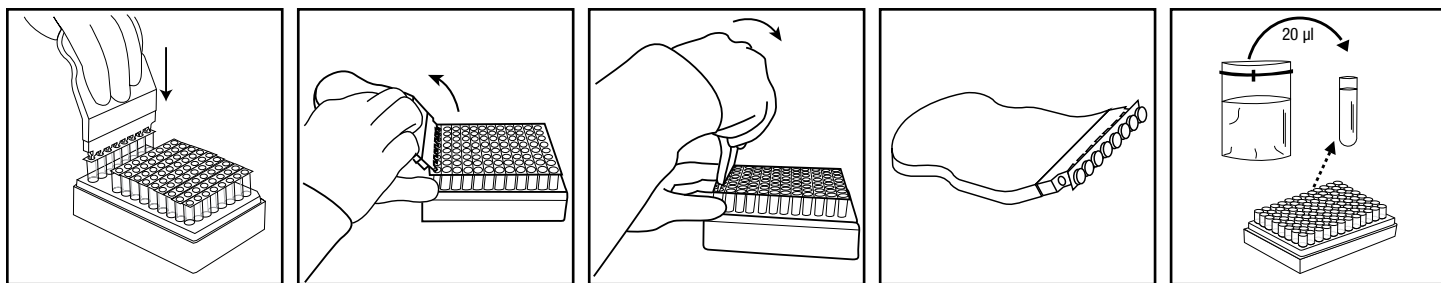
UWAGA: Przed włożeniem Tacy 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej z próbkami reakcyjnymi Urządzenie 3M do diagnostyki molekularnej musi osiągnąć i utrzymać temperaturę 60°C. Etap nagrzewania trwa około 20 minut i sygnalizuje go POMARAŃCZOWA kontrolka na pasku stanu urządzenia. Kiedy urządzenie będzie gotowe do rozpoczęcia analizy, kolor paska stanu zmieni się na ZIELONY.

Liza

1. Umożliwić ogrzanie próbek z roztworem lizującym 3M, pozostawiając stojak w temperaturze pokojowej (20–25°C) na noc (16–18 godzin). Alternatywą dla równoważenia temperatury próbek z roztworem lizującym 3M do temperatury pokojowej jest pozostawienie próbek z roztworem lizującym 3M na stole laboratoryjnym na co najmniej 2 godziny, inkubacja próbek z roztworem lizującym 3M w inkubatorze nastawionym na $37 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 1 godzinę lub umieszczenie ich w suchym podwójnym bloku grzewczym na 30 sekund w temperaturze 100°C .
2. Odwrócić próbki zamknięte korkiem w celu wymieszania ich zawartości. Przejść do następnego kroku w ciągu 4 godzin.
3. Wyjąć bulion przednamnażający z inkubatora.
4. Dla każdej próbki oraz próbki Kontroli ujemnej (NC) (sterylnego podłoża do przednamnażania) wymagana jest jedna próbka z roztworem lizującym 3M.
 - 4.1 Taśmy z próbkami z roztworem lizującym 3M można dociąć do żądanej liczby próbek z roztworem lizującym 3M. Zależnie od sytuacji należy dobrać liczbę pojedynczych próbek z roztworem lizującym 3M lub taśm złożonych z 8 próbek. Umieścić próbki z roztworem lizującym 3M w pustym stojaku.
 - 4.2 Aby uniknąć zanieczyszczeń krzyżowych, należy otwierać taśmy z próbkami z roztworem lizującym 3M pojedynczo i na każdym etapie przenoszenia stosować nową końcówkę pipety.
 - 4.3 Przednamnożoną próbkę należy przenieść do próbek z roztworem lizującym 3M w opisany poniżej sposób:

Najpierw przenieść każdą przednamnożoną próbkę do pojedynczej próbki z roztworem lizującym 3M.
Na końcu przenieść NC.

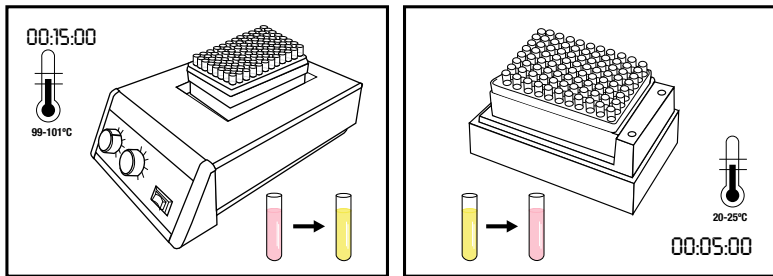
- 4.4 Do zdejmowania korków taśmy z próbkami z roztworem lizującym 3M (po jednej taśmie na raz) należy wykorzystać Narzędzie 3M™ do zakładania/zdejmowania korków próbek do diagnostyki molekularnej – Liza.
- 4.5 Zdjąć korek próbki z roztworem lizującym 3M – jeśli lizat będzie zachowany do celów ponownego wykonania testu, umieścić korki w czystym pojemniku do ponownego założenia po wykonaniu lizy.
 - 4.5.1 Odnośnie obróbki zachowanego lizatu patrz Załącznik A.
- 4.6 Przenieść 20 µl próbki do próbki z roztworem lizującym 3M, o ile nie podano inaczej w protokole zamieszczonym w Tabeli 2, 3 i 4.



5. Powtarzać krok 4.3 do momentu dodania każdej indywidualnej próbki do odpowiedniej próbki z roztworem lizującym 3M w taśmie.
6. Kroki od 4.1 do 4.6 należy powtarzać zależnie od potrzeby dla wszystkich próbek poddawanych badaniu.
7. Po przeniesieniu wszystkich próbek przenieść 20 µl NC (jałowe podłoże do przednamnażania, np. BPW wg ISO) do próbki z roztworem lizującym 3M. Nie stosować wody jako NC.
8. Upewnić się, że temperatura Wkładki 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej wynosi $100 \pm 1^\circ\text{C}$.
9. Umieścić odkryty stojak na próbki z roztworem lizującym 3M we Wkładce 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej i ogrzewać przez 15 ± 1 min. Podczas ogrzewania roztwór lizujący 3M zmieni barwę z różowej (chłodny) na żółtą (gorący).

Próbki, które nie przeszły odpowiedniej obróbki cieplnej na etapie lizy, można uznać za potencjalne zagrożenie biologiczne i NIE należy ich umieszczać w Urządzeniu 3M do diagnostyki molekularnej.

10. Wyjąć odkryty stojak z probówkami z roztworem lizującym 3M z bloku grzewczego i umożliwić schłodzenie we wkładce 3M bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej przez co najmniej 5 minut, a maksymalnie 10 minut. Wkładka 3M bloku schładzania do diagnostyki molekularnej, stosowana w temperaturze otoczenia bez Tacy 3M bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej, powinna znajdować się bezpośrednio na stole laboratoryjnym. Po schłodzeniu roztwór lizujący ponownie przybierze różową barwę.
11. Wyjąć stojak z probówkami z roztworem lizującym 3M z Wkładki 3M bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej.



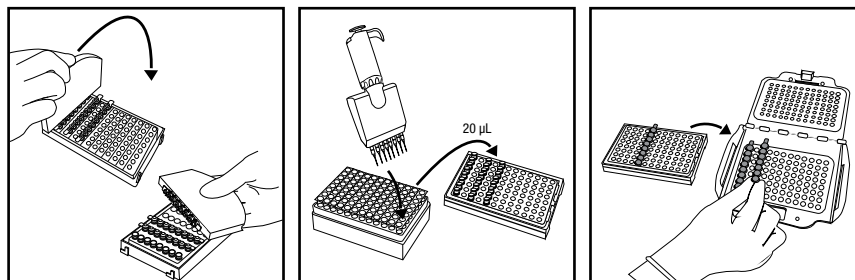
Amplifikacja

1. Dla każdej próbki oraz NC wymagana jest jedna probówka reagentowa Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7).
 - 1.1 Taśmy z probówkami można dociąć do pożądanej liczby probówek. Dobrać wymaganą liczbę pojedynczych probówek reagentowych Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) lub taśm złożonych z 8 probówek.
 - 1.2 Umieścić probówki reagentowe Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) w pustym stojaku.
 - 1.3 Nie wolno dopuścić do wstrząśnięcia granulek reagentowych na dnie probówek.
2. Wybrać jedną probówkę Kontroli 3M reagenta i umieścić ją w stojaku.
3. Aby uniknąć zanieczyszczeń krzyżowych, należy otwierać taśmy z probówkami reagentowymi Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) pojedynczo i na każdym etapie przenoszenia stosować nową końcówkę pipety.
4. Przenieść lizat do probówki reagentowej Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) oraz do probówki z Kontrolą 3M reagenta w sposób opisany poniżej:

Przenieść **najpierw** każdą próbkę lizatu do oddzielnej probówki reagentowej Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7), a następnie przenieść NC. **Na końcu** nawodnić probówkę z Kontrolą 3M reagenta.

5. Do zdejmowania korków probówek reagentowych Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) należy wykorzystać Narzędzie 3M™ do zakładania/zdejmowania korków probówek do diagnostyki molekularnej – Reagent, po jednej taśmie z probówkami na raz. Wyrzucić korek.
 - 5.1 **Przenieść 20 µl próbki lizatu z górnej ½ płynu (unikać osadu) probówki z roztworem lizującym 3M do odpowiedniej probówki reagentowej Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7). Pipetować pod kątem, aby nie dopuścić do wstrząśnięcia granulek. Delikatnie wymieszać, pobierając i wypuszczając roztwór pipetą 5 razy.**
 - 5.2 Powtarzać krok 5.1, aż wszystkie pojedyncze próbki lizatu zostaną dodane do odpowiednich probówek reagentowych Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) znajdujących się w taśmie.
 - 5.3 Probówki reagenta testu Molekularny test 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) należy zamknąć załączonymi dodatkowymi korkami i za pomocą zaokrąglonej strony Narzędzia 3M do zakładania/zdejmowania korków probówek do diagnostyki molekularnej – Reagent wywołać nacisk ruchem w przód i w tył, aby upewnić się, że korek został szczelnie nałożony.
 - 5.4 Kroki od 5.1 do 5.3 należy powtarzać zależnie od potrzeby dla wszystkich próbek poddawanych badaniu.
 - 5.5 Po przeniesieniu wszystkich próbek lizatu powtórzyć kroki od 5.1 do 5.3, aby przenieść 20 µl lizatu NC do probówki reagentowej Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7).
 - 5.6 Przenieść **20 µl lizatu NC do probówki z Kontrolą 3M reagenta**. Pipetować pod kątem, aby nie dopuścić do wstrząśnięcia granulek. Delikatnie wymieszać, pobierając i wypuszczając roztwór pipetą 5 razy.

6. Zamknięte korkiem próbówki należy umieścić na czystej i odkażonej tacy 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej. Następnie zamknąć pokrywę na zatrzask.



7. W oprogramowaniu 3M do diagnostyki molekularnej sprawdzić i potwierdzić konfigurację analizy.
 8. Kliknąć przycisk Start w programie i wybrać używane urządzenie. Nastąpi automatyczne otwarcie pokrywy wybranego urządzenia.
 9. Aby rozpocząć analizę, należy umieścić Tacę 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej w Urządzeniu 3M do diagnostyki molekularnej i zamknąć pokrywę. Na wyniki trzeba poczekać 60 minut, choć wyniki dodatnie można uzyskać wcześniej.
 10. Po zakończeniu testu należy wyjąć Tacę 3M urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej z Urządzenia 3M do diagnostyki molekularnej i zutylizować próbówki, namaczając je w 1–5% (obj./obj., wodnym) roztworze domowego wybielacza przez 1 godzinę i usuwając z obszaru przygotowywania testów.

WAŻNA INFORMACJA: Aby zminimalizować ryzyko otrzymania wyników fałszywie dodatnich w związku z zanieczyszczeniem krzyżowym, nie należy otwierać próbek reagenta zawierających DNA po amplifikacji. Dotyczy to Kontroli 3M reagenta, próbki reagentowej Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) oraz próbek kontroli 3M macierzy. Zanieczyszczone uszczelnione próbki reagentowe należy utylizować, namaczając je w 1–5% (obj./obj., wodnym) roztworze domowego wybielacza przez 1 godzinę i wynosząc poza obszar przygotowania testów.

Wyniki i interpretacja

Algorytm interpretuje krzywą strumienia świetlnego powstałego w wyniku wykrycia amplifikacji kwasu nukleinowego. Oprogramowanie prowadzi automatyczną analizę wyników oraz koduje je odpowiednimi kolorami. Wynik dodatni lub ujemny określa się przez analizę wielu określonych niepowtarzalnych parametrów krzywej. Domniemane wyniki dodatnie przekazuje się w czasie rzeczywistym, natomiast wyniki ujemne wyświetlą się po zakończeniu testu.

Domniemane wyniki dodatnie próbek należy potwierdzić zgodnie ze standardowymi procedurami operacyjnymi laboratorium lub stosując odpowiednią referencyjną metodę potwierdzającą^(1,2,3), począwszy od transferu z głównego podłoża przednamnażającego BPW wg ISO do drugorzędowych bulionów przednamnażających, a następnie wyizolowanie i potwierdzenie izolatów za pomocą stosownych metod biochemicznych i serologicznych.

UWAGA: Nawet próbka ujemna nie da odczytu zerowego, ponieważ system i odczynniki do amplifikacji Molekularnym testem 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) charakteryzują się swoistym poziomem tła w RLU.

W rzadkich przypadkach, przy wystąpieniu nietypowego strumienia światła wychodzącego, algorytm opisze je jako „Sprawdzić”. Firma 3M zaleca powtórzenie testów dla wszystkich próbek oznaczonych jako „Sprawdzić”. Jeżeli utrzymuje się wynik „Sprawdzić”, należy przejść do testu potwierdzającego z zastosowaniem preferowanej metody lub zgodnie z lokalnymi przepisami.

W przypadku niezgodności wyników (domniemany wynik dodatni w badaniu Molekularnym testem 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7), brak potwierdzenia jedną z powyższych metod, a w szczególności w przypadku testu aglutynacji lateksowej), laboratorium musi wykonać czynności niezbędne do zapewnienia ważności uzyskanych wyników.

Potwierdzenie wyników zgodnie z certyfikowaną metodą NF VALIDATION

W kontekście walidacji NF VALIDATION wszystkie próbki określone jako dodatnie w badaniu testem 3M Molekularny test do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) należy potwierdzić, wykonując jeden z następujących testów:

Opcja 1: Zastosowanie normy ISO 16654⁽³⁾, począwszy od podłoża przednamnażającego w postaci buforowanej wody peptonowej⁽³⁾.

Opcja 2: Wdrożenie metody potwierdzającej, która polega na wykonaniu następujących czynności: Umieścić 50 µl podłoża przednamnażającego w postaci buforowanej wody peptonowej⁽³⁾ na płytce agarowej z podłożem MacCockney z cefiksimem, tellurynem potasu i sorbitolem (CT-SMAC)⁽³⁾. Inkubować przez 24 ± 3 godziny w temperaturze 37°C. Umieścić charakterystyczne kolonie na agarze odżywczym i wykonać test aglutynacji lateksowej bezpośrednio na wyizolowanych koloniach. Jeżeli wyniki badania Molekularnym testem 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7) nie są potwierdzone, należy wykonać separację immunomagnetyczną, a następnie umieścić 50 µl na CT-SMAC.

Opcja 3: Wykorzystanie sond kwasu nukleinowego w sposób opisany w normie EN ISO 7218⁽⁵⁾, wykonanych na odizolowanych koloniach (oczyszczonych lub nie) z CT-SMAC (patrz Opcja 1 lub 2). Należy wykorzystać sondy kwasu nukleinowego inne niż użyte w badaniu Molekularnym testem 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7).

Opcja 4: Zastosowanie innej metody zgodnie z certyfikatem NF VALIDATION, której zasada musi się różnić od Molekularnego testu 3M do wykrywania 2 – *E. coli* O157 (w tym H7). Należy stosować kompletny protokół opisany dla tej drugiej metody poddanej walidacji. Wszystkie kroki poprzedzające rozpoczęcie potwierdzania muszą być wspólne dla obu metod.

W przypadku niezgodności wyników (domniemany wynik dodatni z zastosowaniem alternatywnej metody, brak potwierdzenia jedną z powyższych metod) laboratorium musi wykonać czynności niezbędne do zapewnienia ważności uzyskanych wyników.

W przypadku pytań dotyczących konkretnych zastosowań lub procedur należy odwiedzić stronę www.3M.com/foodsafety lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy 3M.

Załącznik A. Przerwanie protokołu: Przechowywanie i ponowne badanie próbek

1. W celu przechowywania lizatu poddanego obróbce termicznej należy ponownie zamknąć probówkę lizatu czystym korkiem (patrz część **Liza**, punkt 4.5).
2. W celu przechowywania przednamnożonej próbki należy inkubować ją przez minimum 18 godzin przed przechowywaniem.
3. Przechowywać w temp. od 4 do 8°C maksymalnie przez 72 godziny.
4. Przygotować przechowywaną próbkę do amplifikacji przez odwrócenie 2–3 razy w celu zmieszania.
5. Otworzyć probówkę.
6. Umieścić mieszane próbki lizatu we Wkładce 3M bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej i ogrzewać w temp. 100 ± 1°C przez 5 ± 1 min.
7. Wyjąć stojak z probówkami z roztworem lizującym 3M z bloku grzewczego i umożliwić schłodzenie we wkładce 3M bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej przez co najmniej 5 minut, a maksymalnie 10 minut.
8. Kontynuować protokół od etapu **Amplifikacji** wyszczególnionego powyżej.

Bibliografia:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Objaśnienie symboli

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Инструкции к препарату

Молекулярная диагностика — 2: *E. coli* O157 (включая H7)

Описание продукта и его назначение

Комплект «Молекулярная диагностика 3M™ — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» используется вместе с системой молекулярной диагностики 3M™ для быстрого и точного обнаружения *E. coli* O157 (включая H7) в обогащенных пробах пищевых продуктов и кормов.

В тест-наборе для молекулярного анализа 3M используется петлевая изотермическая амплификация для быстрого расширения нуклеотидных последовательностей с высокой точностью и чувствительностью в сочетании с биолюминесценцией для выявления амплификации. Предположительно 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).

Тест-набор «Молекулярная диагностика 3M — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» предназначен для применения в лабораторных условиях и должен использоваться 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 экологических, фармацевтических, косметических, клинических или ветеринарных образцов. Действие тест-набора «Молекулярная диагностика 3M — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» не оценивалось в отношении всех возможных пищевых продуктов, технологий производства 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 образцов, протоколы тестирования, подготовка образцов, 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 образцов, конкретных пищевых продуктов, а также микробных провокационных проб.

Компания 3M провела испытание тест-набора «Молекулярная диагностика 3M — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» с забуференной пептонной водой ISO.

Прибор для молекулярной диагностики 3M™ предназначен для использования вместе с образцами, прошедшими тепловую обработку на этапе лизиса, который проводится с целью уничтожения присутствующих в образце организмов. Образцы, 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 тест-наборе «Молекулярная диагностика 3M — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» предусмотрено 96 тестов, описание которых приведено в таблице 1.

Таблица 1. Компоненты тест-набора для молекулярного анализа 3M

Элемент	Обозначение	Количество	Содержимое	Комментарии
Раствор для лизиса (LS) 3M™	Розовый раствор в прозрачных пробирках	96 (12 пластинок по 8 пробирок на каждой)	580 мкл раствора для лизиса 3M в каждой пробирке	В штативе и готовы к использованию
Пробирки с реагентом «Молекулярная диагностика 3M™ — 2: <i>E. coli</i> O157 (включая H7)»	Розовые пробирки	96 (12 пластинок по 8 пробирок на каждой)	Лиофилизированная смесь для амплификации и обнаружения штаммов	Готовы к использованию

Запасные колпачки	Розовые колпачки	96 (12 пластинок по 8 колпачков на каждой)		Готовы к использованию
Контроль реагентов (RC) 3М™	Прозрачные пробирки с контрольно-герметизирующими крышками	16 (2 пакетика по 8 пробирок в каждом)	Лиофилизированный контроль ДНК, смесь для амплификации и обнаружения штаммов	Готовы к использованию
Краткое вводное руководство		1		

Отрицательный контроль, не входящий в комплект, представляет собой стерильную обогатительную среду, например забуференную пептонную воду 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 3М и комплекта «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)». 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 «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» для диагностики заболеваний людей или животных.

Пользователь несет ответственность за обучение персонала надлежащим методикам проведения анализа, например излагаемым в документе «Надлежащая лабораторная практика», ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ или ISO 7218⁽⁵⁾.

Для снижения рисков, связанных с выпуском зараженного продукта вследствие ложноотрицательного результата, следуйте приведенным далее правилам.

- Соблюдайте протокол и выполняйте тестирование в строгом соответствии с инструкциями к препарату.
- Используйте среду, предварительно нагретую до $41,5 \pm 1$ °C. Не допускайте падения температуры среды ниже диапазона инкубации во время приготовления образца.
- Храните тест-набор «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» согласно указаниям на упаковке и инструкциям к препарату.
- Всегда используйте комплект «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» до истечения срока годности.
- Комплект «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» следует использовать для исследования проб пищевых продуктов и сред производства пищевых продуктов, прошедших внутреннюю или стороннюю валидацию.
- Используйте комплект «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» только на тех поверхностях, с теми дезинфицирующими средствами, в соответствии с теми протоколами и для тех штаммов бактерий, которые прошли внутреннюю или стороннюю проверку.
- Образец среды, содержащий нейтрализующий буферный раствор с арилсульфонатным комплексом, следует перед проверкой разбавить в пропорции 1 : 2 (1 часть образца в 1 части стерильного обогатительного бульона). Альтернативный вариант — перенести 10 мкл обогатительной среды нейтрализующего буферного раствора в пробирки с раствором для лизиса 3М. Средства подготовки проб к анализу 3М™, которые содержат нейтрализующий буферный раствор 3М™ с арилсульфонатным комплексом: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XLSL10NB, HS10NB и HS119510NB.

Для снижения риска, связанного с воздействием химических и биологически опасных веществ, следуйте приведенным ниже правилам.

- 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 образцами.
- Избегайте контакта с обогатительной средой и пробирками с реагентом после амплификации.
- Утилизируйте обогащенные пробы и связанные загрязненные отходы в соответствии с действующими местными, региональными, национальными и промышленными стандартами.
- 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.

Для снижения рисков, связанных с перекрестным загрязнением при подготовке образцов для диагностики, следуйте приведенным далее правилам.

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

Для снижения рисков, связанных с воздействием горячих жидкостей, следуйте приведенным далее правилам.

- 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 образцов для диагностики, следуйте приведенным далее правилам.

- Рекомендуется использовать стерильные аэрозоль-устойчивые (фильтрующие) наконечники для пипеток, применяемые в молекулярной биологии.
- Для переноса каждого образца используйте пипетку с новым наконечником.
- При переносе образца из обогатительной среды в пробирку с раствором для лизиса придерживайтесь свода правил «Надлежащие лабораторные практики» (Good Laboratory Practices). Во избежание загрязнения микродозатора можно добавить промежуточный этап переноса. Например, пользователь может переносить каждый обогащенный образец в стерильную пробирку.
- По возможности следует использовать установки для работ в области молекулярной биологии, оборудованные бактерицидными лампами.

Для снижения рисков, связанных с ложноположительными результатами, необходимо учитывать следующую информацию.

- 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 образцов для диагностики.

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

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

Ответственность пользователей

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

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 несет ответственность пользователь, который 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 отвечает за соответствие выбранного им метода исследования требованиям его клиентов или поставщиков.

Результаты, полученные с помощью продукта 3M 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 матрицам пищевых продуктов, компания 3M разработала набор «Контроль матрицы для молекулярной диагностики 3M™». При необходимости используйте контроль матрицы (МС), чтобы определить, может ли матрица повлиять на результаты тестов из комплекта «Молекулярная диагностика 3M — 2: *E. coli* O157 (включая H7)». При принятии метода 3M или тестировании новых или неизвестных матриц либо матриц, материалы или методы обработки которых подверглись изменениям, протестируйте несколько выборочных 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 и средств судебной защиты

ЕСЛИ ИНОЕ ЯВНО НЕ УКАЗАНО В РАЗДЕЛЕ ОБ ОГРАНИЧЕННОЙ ГАРАНТИИ НА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ УПАКОВКЕ ПРОДУКТА, 3M НЕ ПРИЗНАЕТ ПРЯМЫЕ ИЛИ КОСВЕННЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА, ВКЛЮЧАЯ, ПОМИМО ПРОЧЕГО, ГАРАНТИЮ ТОВАРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИЛИ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СООТВЕТСТВИИ С УКАЗАННОЙ ОБЛАСТЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ. Если в изделии компании 3M Food Safety обнаруживаются дефекты, компания 3M или уполномоченный этой компанией дистрибьютор обязуется по своему усмотрению заменить это изделие или возместить стоимость его покупки. Это единственный способ правовой защиты. О возможном дефекте необходимо уведомить компанию 3M в течение 60 дней с момента его обнаружения и вернуть дефектный препарат в компанию 3M. Для санкционирования возврата товара позвоните в службу поддержки клиентов (1-800-328-1671 в США) или своему официальному представителю компании 3M Food Safety.

Ограничение ответственности компании 3M

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

Хранение и утилизация

Хранить тест-набор «Молекулярная диагностика 3M — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» при температуре 2–8 °C. Не замораживать. Хранить вдали от воздействия прямых солнечных лучей. 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 °C не более 60 дней.

Не используйте комплект «Молекулярная диагностика 3M — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» после истечения срока годности. Дата истечения срока годности и номер партии указаны на этикетке на наружной поверхности коробки. После применения обогатительная среда и пробирки для проведения тестов из тест-набора «Молекулярная диагностика 3M — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» могут содержать болезнетворные микроорганизмы. После завершения испытаний следуйте действующим отраслевым стандартам по утилизации загрязненных отходов. Дополнительную информацию и местные нормативные требования в отношении утилизации отходов см. в паспортах безопасности.

Инструкции по применению

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

Пользователь должен пройти обучение по вопросам аттестации функционирующего оборудования применительно к системе молекулярной диагностики 3M, как описано в документе «Аттестация установленного оборудования (IQ) и аттестация функционирующего оборудования (OQ): протоколы и инструкции для системы молекулярной диагностики 3M»⁽⁷⁾.

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.

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

таблица 3, «Протоколы обогащения сред согласно *Official Method of Analysis*SM 2017.01 AOAC®»;

таблица 4, «Протоколы обогащения согласно сертификату NF VALIDATION 3M 01.18-05.17».

Обогащение пробы

В таблицах 2, 3 и 4 приведены инструкции по обогащению проб пищевых продуктов. За проверку альтернативных протоколов отбора образцов или степеней разбавления для обеспечения соответствия этого метода тестирования критериям пользователя несет ответственность сам пользователь.

Пищевые продукты

1. Предварительно нагрейте BPW ISO для обогащения до $41,5 \pm 1$ °C.
2. Асептически объедините обогащающую среду и образец в соответствии с таблицами 2, 3 или 4. В случае тестирования любого вида мяса и проб высокодисперсных материалов рекомендуется использовать мешочные фильтры.
3. Гомогенизируйте все матрицы (кроме листовых и фруктовых образцов) тщательно, смешивая, растирая или перемешивая вручную в течение $2 \pm 0,2$ мин. Инкубируйте при $41,5 \pm 1$ °C в течение необходимого времени в соответствии с таблицами 2, 3 или 4.

Таблица 2. Общие протоколы обогащения проб

Матрица образца ^(а)	Размер образца	Объем среды для обогащения (мл)	Температура обогащения (± 1 °C)	Время обогащения (ч)
Сырая говядина, в том числе фарш и мелкая нарезка	325 г	975. BPW ISO (предварительно нагретая)	41,5	10–18
Сырое мясо, включая сырую говядину, свинину, птицу, баранину и мясо бизона	25 г	225. BPW ISO (предварительно нагретая)	41,5	8–18
Листовые продукты ^(б)	200 г	450. BPW ISO (предварительно нагретая)	41,5	18–24
Другие продукты, включая фрукты ^(б) , овощи, фруктовые/овощные соки, свежие травы, сырые морепродукты, сырые яйца, сырое молоко, тесто для печенья и переработанное мясо	25 г	225. BPW ISO (предварительно нагретая)	41,5	18–24
Грецкие орехи или смеси орехов, содержащие грецкие орехи (данный протокол подходит для других орехов, включая орехи пекан, миндаль, фисташки, кешью и каштаны)	25 г	225. восстановленное нежирное сухое молоко	41,5	18–24

(а) Замороженные образцы должны быть доведены до 4–8 °C перед добавлением в среду для обогащения.

(б) Листовые продукты и образцы фруктов следует осторожно перемешивать вручную в течение 5 минут. Не смешивать и не обрабатывать в смесителе.

Особые инструкции к утвержденным методам

*Official Methods of Analysis*SM 2017.01 AOAC®

*Official Method of Analysis*SM AOAC тест-набора «Молекулярная диагностика 3M — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» подтвердил его эффективность для определения *E. coli* O157:H7. Тестируемые во время исследования матрицы показаны в таблице 3.

Таблица 3. Протоколы по обогащению с использованием предварительно нагретой BPW ISO при $41,5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ согласно *Official Method of Analysis*SM 2017.01 AOAC®

Матрица образца	Размер образца	Объем среды для обогащения (мл)	Время обогащения (ч)	Гомогенизация
Сырой говяжий фарш (постный, 73 %)	325 г	975	10–18	Вручную или в смесителе
Сырой шпинат в пакетах ^(а)	200 г	450	18–24	Аккуратно смешивайте вручную в течение 5 минут, не гомогенизируйте
Молодые побеги	25 г	225	18–24	Аккуратно смешивайте вручную в течение 5 минут, не гомогенизируйте
Замороженная черника ^{(а)(b)}	25 г	225	18–24	Аккуратно смешивайте вручную в течение 5 минут, не гомогенизируйте

(а) Листовые продукты и образцы фруктов следует осторожно перемешивать вручную в течение 5 минут. Не смешивать и не обрабатывать в смесителе.

(b) Замороженные образцы должны быть доведены до $4\text{--}8 \text{ }^\circ\text{C}$ перед добавлением в среду для обогащения.

NF Validation от AFNOR Certification



ЗМ 01.18-05.17

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⁽⁸⁾, по сравнению со стандартом ISO 16654⁽³⁾

Объект валидации: сырое говяжье мясо, сырые молочные продукты, сырые фрукты и овощи.

Приготовление образца: пробы следует готовить в соответствии со стандартами EN ISO 16654 и EN ISO 6887⁽⁶⁾.

Версия программного обеспечения: см. сертификат.

Таблица 4. Протоколы по обогащению с использованием предварительно нагретой BPW ISO при $41,5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ согласно методу с сертификатом NF VALIDATION ЗМ 01/18-05/17

Протокол	Размер образца	Объем среды для обогащения (мл)	Температура обогащения ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$)	Время обогащения (ч)
Сырые молочные продукты, сырые фрукты и сырые овощи	25 г	225	41,5	18–24
Сырое говяжье мясо	25 г	225	41,5	8–24

**ПРИМЕЧАНИЯ**

- Образцы объемом более 25 г не были протестированы в исследовании NF VALIDATION.
- Рекомендованные точки прерывания протокола после обогащения или после лизиса образца. 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**. Лизат также можно хранить при –20 °С.
- Краткие протоколы обогащения требуют соблюдения условий инкубации; кроме того, необходимо соблюдать температуры, указанные в протоколе. Температура водяной бани или инкубатора, в котором среды предварительно подогреваются, должна быть проверена, чтобы убедиться, что среда для обогащения достигает требуемой температуры. Общее время приготовления образца, включая задержку между окончанием этапа предварительного нагрева среды и началом инкубации образца пищевых продуктов, не должно превышать 45 минут. Рекомендуется использовать вентилируемый инкубатор во время инкубации.

Подготовка лотка быстрой загрузки для молекулярной диагностики 3М™

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 3М.
2. Сполосните водой лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики 3М.
3. Вытрите лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики 3М досуха одноразовым полотенцем.
4. Перед использованием лотка быстрой загрузки для молекулярной диагностики 3М убедитесь в том, что он сухой.

Подготовка блока «Молекулярная диагностика 3М™. Охладительный блок (вставной)»

Поместите блок «Молекулярная диагностика 3М. Охладительный блок (вставной)» на лабораторный стол. При этом лоток «Молекулярная диагностика 3М. 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 3М™

Поместите внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики 3М в сухое двухблочное нагревательное устройство. Включите сухое нагревательное устройство и установите температуру таким образом, чтобы температура внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики 3М достигла постоянного значения 100 ± 1 °С.

ПРИМЕЧАНИЕ. Внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики 3М 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 3М составляет 100 ± 1 °С.

Подготовка прибора для молекулярной диагностики 3М™

1. Включите прибор для молекулярной диагностики 3М™ и войдите в систему. Чтобы убедиться в наличии самой последней версии программного обеспечения, обратитесь к представителю 3М Food Safety.
2. Включите прибор для молекулярной диагностики 3М.
3. Создайте или отредактируйте цикл анализа с данными для каждого образца. Подробную информацию см. в руководстве пользователя системы для молекулярной диагностики 3М™.

ПРИМЕЧАНИЕ. Прежде чем вставлять лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики 3М с реакционными пробирками в прибор для молекулярной диагностики 3М, убедитесь в том, что прибор достиг температуры 60 °С и поддерживает ее. Данная стадия нагрева занимает около 20 минут и обозначается ОРАНЖЕВЫМ светом в строке состояния прибора. Когда прибор будет готов к запуску цикла, цвет панели состояния изменится на ЗЕЛЕНЫЙ.

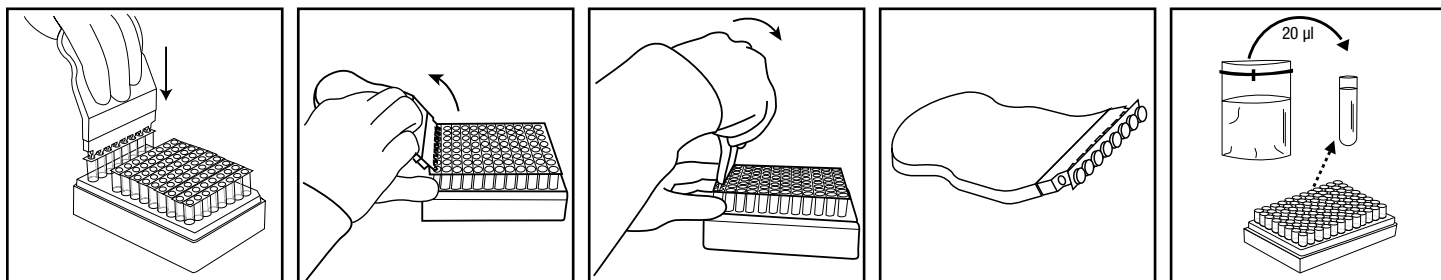
Лизис

1. Пробирки с раствором для лизиса 3М 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 3М до температуры окружающей среды: поместить пробирки с раствором для лизиса 3М на лабораторный стол минимум на 2 часа, оставить их для инкубации 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 шагу через 4 часа.
3. Извлеките обогатительный бульон из инкубатора.
4. На каждый образец, а также образец для отрицательного контроля (NC) (в стерильной обогатительной среде) требуется одна пробирка с раствором для лизиса ЗМ.
 - 4.1 Для получения необходимого количества пробирок пластинки с пробирками с раствором для лизиса ЗМ можно разрезать. Выберите необходимое количество отдельных пробирок или пластинок по 8 пробирок с раствором для лизиса ЗМ. Поместите пробирки с раствором для лизиса ЗМ на пустой штатив.
 - 4.2 Во избежание перекрестного загрязнения распечатывайте пластинки с пробирками с раствором для лизиса ЗМ по одной за раз и для каждого этапа переноса используйте новый наконечник для пипетки.
 - 4.3 Перенесите обогащенный образец в пробирки с раствором для лизиса ЗМ, как описано ниже.

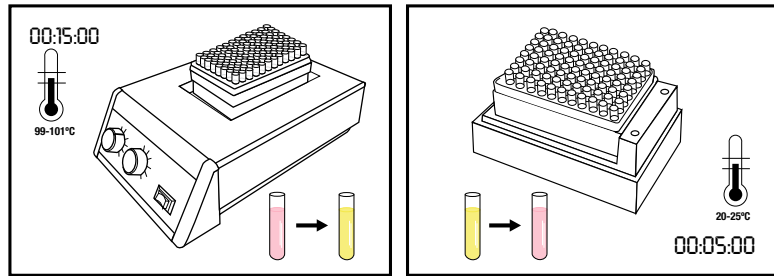
Сначала перенесите каждый обогащенный образец в отдельную пробирку с раствором для лизиса ЗМ. Пробы для отрицательного контроля переливайте **в последнюю очередь**.

- 4.4 Распечатайте пробирки с раствором для лизиса ЗМ с помощью инструмента «Молекулярная диагностика ЗМ™. 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 ЗМ. 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 образца в пробирку с раствором для лизиса ЗМ, если другое не указано в таблицах протокола 2, 3 и 4.



5. Повторяйте шаг 4.3 до тех пор, пока каждая отдельная проба не будет перелита в соответствующую пробирку с раствором для лизиса ЗМ на пластинке.
6. Повторите этапы 4.1–4.6 столько раз, сколько образцов необходимо протестировать.
7. После переноса всех образцов перенесите в пробирку с раствором для лизиса ЗМ 20 мкл среды для отрицательного контроля (стерильной обогатительной среды, например BPW ISO). Не используйте воду в качестве среды для отрицательного контроля.
8. Убедитесь в том, что температура внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики ЗМ составляет 100 ± 1 °C.
9. Поместите штатив с открытыми пробирками для лизиса ЗМ во внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики ЗМ и нагревайте в течение 15 ± 1 мин. Во время нагрева цвет раствора для лизиса ЗМ изменится с розового (в холодном состоянии) на желтый (в горячем состоянии).
Образцы, которые не прошли надлежащую тепловую обработку на этапе лизиса, могут представлять биологическую опасность. ЗАПРЕЩАЕТСЯ вставлять их в прибор для молекулярной диагностики ЗМ.
10. Извлеките открытый штатив с пробирками с раствором для лизиса ЗМ из нагревательного блока и поместите его для охлаждения в блок «Молекулярная диагностика ЗМ. Охладительный блок (вставной)» на период от 5 до 10 минут. Блок «Молекулярная диагностика ЗМ. Охладительный блок (вставной)», используемый при температуре окружающей среды без лотка «Молекулярная диагностика ЗМ. 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 «Молекулярная диагностика 3М. Охладительный блок (вставной)».



Амплификация

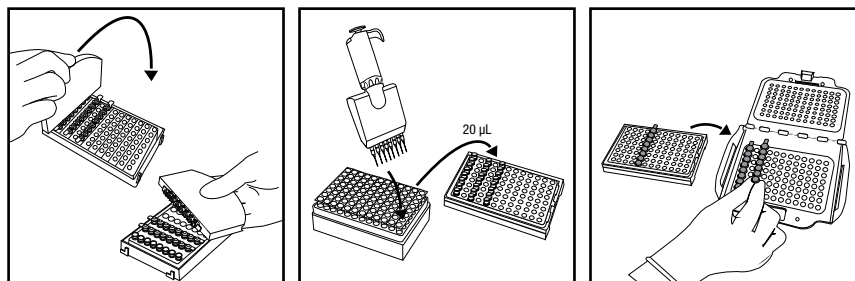
1. На каждый образец, а также образец для отрицательного контроля (NC) требуется одна пробирка с реагентом из тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)».
 - 1.1 Для получения необходимого количества пробирок пластинки с пробирками можно разрезать. Выберите необходимое количество отдельных пробирок или пластинок по 8 пробирок с реагентом из тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)».
 - 1.2 Поместите пробирки с реагентом тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» в пустой штатив.
 - 1.3 Не встряхивайте 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 одну пластинку с пробирками с реагентом из тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» за раз и для каждого этапа переноса используйте новый наконечник для пипетки.
4. Перенесите лизат в пробирку с реагентом тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» и пробирку 3М «Контроль реагентов» согласно приведенному ниже описанию.

Перенесите лизат каждого образца в отдельные пробирки с реагентом тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» **в первую очередь**, а затем — образцы для отрицательного контроля (NC). Смочите пробирку 3М «Контроль реагентов» **в последнюю очередь**.

5. Распечатывайте пробирки с реагентом тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» с помощью инструмента «Молекулярная диагностика 3М™. Инструмент для запечатывания/распечатывания пробирок (реагент)»; пластинки с пробирками следует распечатывать по одной за раз. Выбросьте колпачок.
 - 5.1 **Перенесите 20 мкл лизата образца из верхней ½ части пробирки с раствором для лизиса 3М (не допуская попадания осадка) в соответствующую пробирку с реагентом** тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)». **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 каждого образца не будет перелит в соответствующую пробирку с реагентом тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» на пластинке.
 - 5.3 Закройте пробирки с реагентом тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» запасными колпачками и надавите скругленной стороной инструмента «Молекулярная диагностика 3М. 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 образцов необходимо протестировать.
 - 5.5 После переноса лизатов всех образцов повторите действия 5.1–5.3, чтобы перенести 20 мкл лизата для отрицательного контроля (NC) в пробирку с реагентом тест-набора «Молекулярная диагностика 3М — 2: *E. coli* O157 (включая H7)».
 - 5.6 Перенесите **20 мкл лизата для отрицательного контроля (NC) в пробирку 3М «Контроль реагентов»**. 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.



6. Загрузите запечатанные пробирки в чистый продезинфицированный лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики ЗМ. Затем закройте и защелкните крышку.



7. Проверьте и подтвердите настроенный цикл анализа в программном обеспечении прибора для молекулярной диагностики ЗМ.
8. Нажмите кнопку «Пуск» в программном обеспечении и выберите инструмент для использования. 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 образцов 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 контролем реагента ЗМ тест-набора «Молекулярная диагностика ЗМ — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» 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 стандартным методом^(1, 2, 3). Начать необходимо с переноса образцов из первичной BPW ISO для обогащения во вторичную среду для обогащения с последующим посевом на чашках и подтверждением изолятов с использованием соответствующих биохимических, микроскопических и серологических методов.

ПРИМЕЧАНИЕ. Результаты анализа не могут быть нулевыми даже в случае исследования отрицательного образца, поскольку система и амплификационные реагенты из тест-набора «Молекулярная диагностика ЗМ — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» способны считывать показания фоновой RLU.

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

В случае несоответствующих результатов (предположительно положительных с использованием тест-набора «Молекулярная диагностика ЗМ — 2: *E. coli* O157 (включая H7)», не подтвержденных одним из способов, описанных выше, и, в частности, при реакции латексной агглютинации) лаборатория должна принять необходимые меры, чтобы обеспечить достоверность полученных результатов.

Подтверждение результатов в соответствии с методом, получившим сертификат NF VALIDATION

В контексте сертификации NF VALIDATION все образцы, идентифицированные как положительные с помощью тест-набора «Молекулярная диагностика ЗМ — 2: *E. coli* O157 (включая H7)», должны быть подтверждены одним из следующих испытаний.

Вариант 1. Используя стандарт ISO 16654⁽³⁾, начиная с обогащения забуференной пептонной водой⁽³⁾.

Вариант 2. Реализация метода подтверждения, состоящего из следующего. Нанесите полосами 50 мкл забуференной пептонной воды⁽³⁾ для обогащения на чашку с агаром Мак-Конки с цефиксимом, калием, теллуридом и сорбитолом (СТ-SMAC)⁽³⁾. Инкубируйте в течение 24 ± 3 ч при 37°C . Нанесите характеристические колонии на питательный агар и проведите реакцию латексной агглютинации непосредственно на изолированных колониях. Если результаты испытания с помощью тест-набора «Молекулярная диагностика ЗМ — 2: *E. coli* O157 (включая H7)» не подтверждены, выполните этап иммуномагнитного разделения и затем нанесите 50 мкл на СТ-SMAC.

Вариант 3. Использование зондов на основе нуклеиновых кислот, как описано в стандарте EN ISO 7218⁽⁵⁾, на изолированных колониях (очищенных или неочищенных) из СТ-SMAC (см. варианты 1 или 2). Зонды на основе нуклеиновых кислот должны отличаться от зондов, используемых в тест-наборе «Молекулярная диагностика ЗМ — 2: *E. coli* O157 (включая H7)».

Вариант 4. Использование любого другого метода, сертифицированного NF VALIDATION, принцип которого должен отличаться от принципа тест-набора «Молекулярная диагностика ЗМ — 2: *E. coli* O157 (включая H7)». Используйте полный протокол, описанный для второго валидированного метода. Все этапы до начала подтверждения должны быть одинаковыми для обоих методов.

В случае несоответствующих результатов (предположительно положительных с использованием альтернативного метода, не подтвержденных одним из способов, описанных выше) лаборатория должна принять необходимые меры, чтобы обеспечить достоверность полученных результатов.

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

Приложение А. Прерывание выполнения протокола. Хранение и повторное испытание образцов

1. Для хранения лизатов, подвергшихся термообработке, снова запечатайте пробирку с раствором для лизиса чистым колпачком (см. раздел 4.5, **Лизис**).
2. Для хранения инкубируйте обогащенный образец минимум 18 часов перед хранением.
3. Отправьте образец на хранение при температуре от 4 до 8°C на период до 72 часов.
4. Подготовьте сохраненный образец для амплификации, перевернув пробирку 2–3 раза для перемешивания.
5. Распечатайте пробирки.
6. Поместите пробирки со смешанным лизатом во внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики ЗМ и подогрейте до температуры $100 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 5 ± 1 мин.
7. Извлеките штатив с пробирками с раствором для лизиса ЗМ из нагревательного блока и поместите его для охлаждения в блок «Молекулярная диагностика ЗМ. Охладительный блок (вставной)» на период от 5 до 10 минут.
8. Продолжите выполнение протокола в соответствии с разделом **Амплификация**, как описано выше.

Список литературы

1. Руководство по бактериологическому анализу Управления США по контролю качества пищевых продуктов и медикаментов. Глава 4А, «Диареогенные штаммы *Escherichia coli*». Ноябрь 2015.
2. Справочник Службы по контролю над безопасностью продуктов питания и медикаментов Министерства сельского хозяйства США для микробиологических лабораторий 5.09. Выявление, выделение и идентификация штаммов *Escherichia coli* O157:H7 в мясных продуктах, тушах и растительных губках. Дата вступления в силу: 15 января 2015.
3. ISO 16654:2001 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных — горизонтальный метод обнаружения *Escherichia coli* O157.
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. ISO 6887. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для анализа, исходная суспензия и десятичное разведение для микробиологического анализа.
7. Аттестация установленного оборудования (IQ) и аттестация функционирующего оборудования (OQ) 3M™: система молекулярной диагностики 3M. 3M Food Safety.

Пояснение символов

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Ürün Talimatları

Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil)

Ürün Tanımı ve Kullanım Amacı

3M™ Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil), zenginleştirilmiş gıda ve yem numunelerinde *E. coli* O157'nin (H7 dahil) hızlı ve spesifik tespiti için 3M™ Moleküler Tayin Sistemi ile kullanılır.

3M Moleküler Tayin Testlerinde, nükleik asit dizgilerinin yüksek özgüllük ve duyarlılıkla hızla amplifiye edilmesi için döngü aracılı izotermal amplifikasyonun yanı sıra amplifikasyonun tespit edilmesi amacıyla biyoluminesans kullanılır. Negatif sonuçlar test tamamlandıktan sonra gösterilirken, olası pozitif sonuçlar gerçek zamanlı olarak bildirilir. Olası pozitif sonuçlar, tercih edilen yöntem kullanılarak veya yerel düzenlemelerde belirtildiği şekilde doğrulanmalıdır^(1, 2, 3).

3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) ürünü, laboratuvar ortamında, laboratuvar teknikleri konusunda eğitim almış profesyonellerin kullanımına yöneliktir. 3M, bu ürünü yiyecek veya içecek endüstrileri dışında kullanım için tescil ettirmemiştir. Örneğin 3M bu ürünü farmasötik ürünler, çevre, kozmetik malzemeler, klinik veya veterinerlik amaçlı numunelerin testlerinde kullanım için tescil ettirmemiştir. 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil), olası tüm gıda ürünleri, işlenmiş gıdalar, test protokolleri veya mümkün olan tüm bakteri suşları ile değerlendirilmemiştir.

Tüm test yöntemlerinde olduğu gibi, zenginleştirme ortamının kaynağı, formülasyonu ve kalitesi sonuçları etkileyebilir. Numune alma yöntemleri, test protokolleri, numune hazırlama, taşıma ve laboratuvar tekniği gibi faktörler de sonuçları etkileyebilir. 3M, yöntemin kullanıcının ölçütlerini karşıladığından emin olmak için belirli gıdalar ve mikrobiyal zorluklarla yeterli sayıda numune kullanılarak kullanıcının ortamında zenginleştirme ortamı dahil olmak üzere yöntemin değerlendirilmesini önerir.

3M, Tamponlanmış Peptonlu Su ISO ile 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) ürününü değerlendirmiştir.

3M™ Moleküler Tayin Cihazı, numune içinde var olan organizmaları yok etmek için tasarlanmış lizis test aşaması sırasında ısı işleminden geçen numuneler ile kullanım için tasarlanmıştır. Lizis test aşaması sırasında doğru şekilde ısı işleme tabi tutulmayan numuneler, olası bir biyolojik tehlike olarak düşünülebilir ve 3M Moleküler Tayin Cihazı'na YERLEŞTİRİLMEMELİDİR.

3M Gıda Güvenliği, ISO (Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı) 9001 tasarım ve üretim sertifikasına sahiptir.

3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) test kiti, Tablo 1'de açıklanmış olduğu gibi 96 test içerir.

Tablo 1. 3M Moleküler Tayin Testi Kit Bileşenleri

Malzeme	Tanım	Miktar	İçindekiler	Yorumlar
3M™ Lizis Solüsyonu (LS)	Şeffaf tüplerde pembe solüsyon	96 (8 tüplük 12 şerit)	Tüp başına 580 µL 3M Lizis Solüsyonu	Rafli ve kullanıma hazır
3M™ Moleküler Tayin Testi 2 - <i>E. coli</i> O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüpleri	Pembe tüpler	96 (8 tüplük 12 şerit)	Liyofilize spesifik amplifikasyon ve tespit karışımı	Kullanıma hazır
İlave kapaklar	Pembe kapaklar	96 (8 kapaklık 12 şerit)		Kullanıma hazır
3M™ Reaktif Kontrolü (RC)	Şeffaf üstten kapatmalı tüpler	16 (8 ayrı tüp içeren 2 poşet)	Liyofilize kontrol DNA'sı, amplifikasyon ve tespit karışımı	Kullanıma hazır
Hızlı Başlangıç Kılavuzu		1		

Kitle birlikte sunulmayan Negatif Kontrol, BPW ISO gibi steril bir zenginleştirme ortamıdır. Negatif Kontrol olarak su kullanmayın.

Güvenlik

Kullanıcı, 3M Moleküler Tayin Sistemi ve 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) ile ilgili talimatlarda yer alan tüm güvenlik bilgilerini okumalı, anlamalı ve bunlara uymalıdır. Güvenlik talimatlarını ileride başvurmak üzere saklayın.

⚠ UYARI: Önlenmemesi halinde ölüm ya da ciddi yaralanma ve/veya mal zararı ile sonuçlanabilecek tehlikeli bir durumu gösterir.

BİLDİRİM: Kaçınılması halinde maddi zarar ile sonuçlanabilen olası tehlikeli bir durumu gösterir.

UYARI

3M Moleküler Tayin Testi 2 - E. coli O157 (H7 Dahil) ürününü insanların veya hayvanların sağlık durumlarını tanılamak amacıyla kullanmayın.

Kullanıcı, personelini geçerli ve doğru test teknikleri konusunda eğitmelidir; örneğin, İyi Laboratuvar Uygulamaları, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ veya ISO 7218⁽⁵⁾.

Kontamine ürünün açığa çıkmasına yol açan yanlış bir negatif sonuçla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Tam olarak ürün talimatlarında belirtildiği şekilde protokolü uygulayın ve testleri gerçekleştirin.
- 41,5±1°C'ye önceden ısıtılmış ortamı kullanın. Numune hazırlama sırasında ortamın inkübasyon sıcaklığı aralığının altına düşmesine izin vermeyin.
- 3M Moleküler Tayin Testi 2 - E. coli O157 (H7 Dahil) ürününü ambalaj üzerinde ve ürün talimatlarında belirtildiği şekilde saklayın.
- 3M Moleküler Tayin Testi 2 - E. coli O157 (H7 Dahil) ürününü mutlaka son kullanma tarihinden önce kullanın.
- 3M Moleküler Tayin Testi 2 - E. coli O157 (H7 Dahil) ürününü, kurum içinde veya bir üçüncü tarafça onaylanmış gıda, yem ve çevresel gıda işleme numuneleri ile kullanın.
- 3M Moleküler Tayin Testi 2 - E. coli O157 (H7 Dahil) ürününü sadece kurum içinde veya bir üçüncü tarafça onaylanmış yüzeyler, sanitizeler, protokoller ve bakteri suşları ile kullanın.
- Aril sülfonat kompleksiyle birlikte Nötrleştirici Tampon (NB) içeren çevresel bir numune için test etmeden önce 1:2 oranında bir dilüsyon gerçekleştirin (1 ölçek steril zenginleştirme sıvı besiyeri içine 1 ölçek numune). Başka bir seçenek ise 3M Lizis Solüsyonu tüplerine 10 µL nötrleştirici tampon zenginleştirme aktarmaktır. Aril sülfonat kompleksi 3M™ Nötrleştirici Tampon içeren 3M™ Numune İşleme Ürünleri: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB ve HS119510NB.

Kimyasallara ve biyolojik tehlikelere maruz kalma ile ilişkili riskleri azaltmak için:

- Patojen testini doğru donanıma sahip bir laboratuvarında, eğitimli personelin kontrolü altında gerçekleştirin. İnkübe edilmiş zenginleştirme ortamı ve inkübe edilmiş zenginleştirme ortamıyla temas etmiş ekipman veya yüzeyler, insan sağlığı için risk oluşturmaya yetecek düzeylerde patojenler içerebilir.
- Reaktifler ve kontamine olmuş numuneler ile çalışırken, uygun koruyucu kıyafet ve gözlük kullanımı dahil olmak üzere, daima standart laboratuvar güvenlik uygulamalarını izleyin.
- Amplifikasyon sonrasında zenginleştirme ortamları ve reaktif tüplerinin içeriği ile temastan kaçının.
- Zenginleştirilmiş numuneleri ve ilişkili kontamine atıkları, geçerli yerel/bölgesel/ulusal/sektörel standartlara göre imha edin.
- Isıtıcıdaki önerilen sıcaklık ayarını aşmayın.
- Önerilen ısıtma süresini aşmayın.
- 3M™ Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası sıcaklığını doğrulamak için uygun ve kalibre edilmiş bir termometre kullanın (örneğin tamamen daldırma tipi termometre değil, kısmi daldırma tipi termometre veya dijital sıcaklık sensörlü termometre). Termometre, 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nda belirlenmiş olan konuma yerleştirilmelidir.

Testi hazırlarken çapraz kontaminasyonla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Daima eldiven takın (kullanıcıyı korumak ve nükleazların girişini önlemek için).

Sıcak sıvılara maruz kalınmasıyla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Isıtıcıdaki önerilen sıcaklık ayarını aşmayın.
- Önerilen ısıtma süresini aşmayın.
- 3M™ Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası sıcaklığını doğrulamak için uygun ve kalibre edilmiş bir termometre kullanın (örneğin tamamen daldırma tipi termometre değil, kısmi daldırma tipi termometre veya dijital sıcaklık sensörlü termometre). Termometre, 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nda belirlenmiş olan konuma yerleştirilmelidir.

BİLDİRİM

Testi hazırlarken çapraz kontaminasyonla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Steril, aerosol bariyerli (filtreli), moleküler biyoloji sınıfı pipet uçlarının kullanılması tavsiye edilir.
- Her numune aktarımı için yeni bir pipet ucu kullanın.
- Numunenin zenginleştirilmiş besiyerinden lizis tüpüne aktarılması için İyi Laboratuvar Uygulamalarını kullanın. Pipetör kontaminasyonunu önlemek için kullanıcı ara bir aktarım adımı eklemeyi seçebilir. Örneğin kullanıcı zenginleştirilmiş her numuneyi steril bir tüpe aktarabilir.
- Mevcutsa germisidal lamba içeren bir moleküler biyoloji çalışma tezgahı kullanın.

Yanlış pozitif sonuçlarla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Amplifikasyon sonrasında tüpleri asla açmayın.
- Kontamine olmuş tüpleri, her zaman %1-5'lik (suda v:v) bir çamaşır suyu solüsyonunda 1 saat süreyle bekleterek ve test hazırlık alanından uzakta imha edin.

Ek bilgiler ve ürünün imha edilmesi ile ilgili yerel düzenlemeler için Güvenlik Veri Formu'na bakın.

Belirli uygulamalar veya prosedürler hakkında sorularınız varsa www.3M.com/foodsafety adresindeki web sitemizi ziyaret edin veya yerel 3M temsilcisi ya da distribütörü ile iletişim kurun.



Kullanıcının Sorumluluğu

Kullanıcılar ürün talimatları ve bilgileri hakkında bilgi edinmekle yükümlüdür. Daha fazla bilgi için www.3M.com/foodsafety adresindeki web sitemizi ziyaret edin veya yerel 3M temsilcinizle ya da dağıtıcınızla iletişime geçin.

Bir test yöntemi seçilirken, numune alma yöntemleri, test protokolleri, numunenin hazırlanması, işlem yapılması ve laboratuvar tekniği gibi dış faktörlerin sonuçları etkileyebileceği bilinmelidir.

Seçilen test yönteminin kullanıcının kriterlerini karşıladığı konusunda kullanıcıyı tatmin edecek uygun matrisler ve mikrobiyal zorluklarla yeterli sayıda numuneyi değerlendirmek üzere herhangi bir test yönteminin seçilmesi kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test yöntemlerinin ve sonuçlarının müşteri ve tedarikçi gereksinimlerini karşılamasını sağlamak yine kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test yöntemlerinde olduğu gibi, herhangi bir 3M Gıda Güvenliği ürününün kullanılmasından elde edilen sonuçlar test edilen matrislerin veya süreçlerin kalitesi konusunda bir garanti oluşturmaz.

Çeşitli gıda matrislerine yönelik olarak yöntemin değerlendirilmesinde müşterilere yardımcı olmak için 3M, 3M™ Moleküler Tayin Matris Kontrolü kitini geliştirmiştir. Gerektiğinde, matrisin 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) sonuçlarını etkileyip etkileyemediğini belirlemek üzere Matris Kontrolü (MC) olanağını kullanın. 3M yönteminin adapte edildiği ya da yeni veya bilinmeyen matrislerin ya da ham maddesi veya prosesi değişen matrislerin test edildiği herhangi bir validasyon döneminde, matrisi temsil eden birkaç numuneyi, yani farklı kaynaktan alınan numuneleri test edin.

Matris; bileşim ve proses gibi yapısal özellikleri olan bir ürün türü olarak tanımlanabilir. Matrisler arasındaki farklılıklar, proseslerindeki veya sunumlarındaki farklılıkların neden olduğu etkiler kadar basit olabilir (ör. pastörize ve ham, kuru ve taze vb.).

Garantilerin Sınırlanması/Sınırlı Çözüm

3M, HER BİR ÜRÜN AMBALAJININ ÜZERİNDEKİ SINIRLI GARANTİ KISMINDA AÇIKÇA BELİRTİLENLER HARİCİNDE, PAZARLANABİLİRLİK VEYA BELİRLİ BİR KULLANIMA UYGUNLUK GARANTİLERİ DAHİL ANCAK BUNLARLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE HERHANGİ BİR AÇIK VEYA ZİMNİ GARANTİYİ KABUL ETMEMEKTEDİR. Herhangi bir 3M Gıda Güvenlik Ürünü'nün kusurlu olması durumunda, 3M veya yetkili dağıtıcısı, tercihine göre ürünü değiştirecek veya ürün satış tutarını iade edecektir. Tarafınıza münhasır çözümler bunlardır. Üründe mevcut olduğundan kuşku duyulan herhangi bir kusurun fark edilmesinden sonraki altmış gün içinde durumu 3M'e bildirin veya ürünü 3M'e iade edin. Mal İade İzni almak için lütfen Müşteri Hizmetleri'ni (ABD'de 1-800-328-1671) veya yerel resmi 3M Gıda Güvenliği temsilcinizi arayın.

3M'in Sınırlı Sorumluluğu

3M DOĞRUDAN, DOLAYLI, ÖZEL, ARIZİ VEYA NETİCE KABİLİNDEN DOĞMUŞ, KAYBEDİLMİŞ KAZANÇLAR DAHİL ANCAK BUNUNLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE HERHANGİ BİR KAYIP VEYA ZARARDAN SORUMLU OLMAYACAKTIR. Hiçbir durumda 3M'in herhangi bir hukuk kuramı altındaki sorumluluğu, kusurlu olduğu iddia edilen ürünün satış fiyatını aşamaz.

Saklama ve Atma

3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) ürününü 2-8°C'de saklayın. Dondurmayın. Saklama sırasında kiti ışıktan uzak tutun. Kiti açtıktan sonra, folyo poşetin zarar görmemiş olduğunu teyit edin. Poşet zarar görmüşse kullanmayın. Açıldıktan sonra, kullanılmayan reaktif tüplerinin, liyofilize reaktiflerin stabilitesini sürdürmek amacıyla, içinde nem çekici ile ağız tekrar kapatılabilir poşet içinde saklanması gerekir. Yeniden kapatılmış poşetleri 60 günden uzun olmamak kaydıyla 2-8°C sıcaklıkta saklayın.

3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) ürününü son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Son kullanma tarihi ve lot numarası kutunun dış yüzündeki etikette belirtilmiştir. Kullanım sonrasında, zenginleştirme ortamı ve 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) tüpleri, potansiyel olarak patojenik materyaller içerebilir. Test tamamlandığında, kontamine atığın imha edilmesi için geçerli endüstri standartlarına uyun. Ek bilgiler ve ürünün imha edilmesi ile ilgili yerel düzenlemeler için Güvenlik Veri Formu'na bakın.

Kullanım Talimatları

Tüm talimatlara dikkatle uyun. Bu uyarının dikkate alınmaması hatalı sonuçlara neden olabilir.

Kullanıcı, "3M Moleküler Tayin Sistemi için Kurulum Yeterliliği (IQ)/Çalışma Yeterliliği (OQ) Protokolleri ve Talimatlar" belgesinde⁽⁷⁾ açıklanan şekilde 3M Moleküler Tayin Sistemi operatör yeterliliği eğitimini tamamlamalıdır.

Laboratuvar tezgahlarını ve ekipmanını (pipetler, kapak takma/kapak sökme araçları vb.) %1-5'lik (suda v:v) bir çamaşır suyu çözeltisi veya DNA uzaklaştırma çözeltisi ile periyodik olarak dekontamine edin.

Özel gereksinimler için "Valide edilmiş yöntemler için özel talimatlar" bölümüne bakın:

AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01'e göre zenginleştirme protokolleri için Tablo 3

NF Validation sertifikası 3M 01/18-05/17'ye göre zenginleştirme protokolleri için Tablo 4



Numune Zenginleştirme

Tablo 2, 3 veya 4'te gıdalara yönelik zenginleştirme protokollerinin yönergeleri verilmiştir. Bu test yönteminin kullanıcı kriterlerini karşılamasını sağlamak üzere alternatif numune alma protokollerinin veya dilüsyon oranlarının valide edilmesi kullanıcının sorumluluğundadır.

Gıdalar

1. BPW ISO zenginleştirme ortamını önceden $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ 'ye ısıtın.
2. Aseptik olarak zenginleştirme ortamını ve numuneyi Tablo 2, 3 veya 4'e göre birleştirin. Tüm et ve yüksek oranda partikül içeren numuneler için filtre torbalarının kullanılması önerilir.
3. Yapraklı ürün ve meyve dışındaki tüm matrisleri, $2 \pm 0,2$ dakika boyunca harmanlama, sindirme veya elle karıştırma yoluyla iyice homojen hale getirin. Tablo 2, 3 veya 4'e göre uygun süre boyunca $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de inkübe edin.

Tablo 2. Genel zenginleştirme protokolleri

Numune Matrisi ^(a)	Numune Boyutu	Zenginleştirme Besiyerinin Hacmi (mL)	Zenginleştirme Sıcaklığı ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Zenginleştirme Süresi (saat)
Kıyma ve küçük parçalar halinde kesilmiş et dahil olmak üzere ham dana eti	325 g	975 BPW ISO (önceden ısıtılmış)	41,5	10-18
Ham dana eti, domuz eti, kümes hayvanları, kuzu eti ve bizon da dahil olmak üzere ham et	25 g	225 BPW ISO (önceden ısıtılmış)	41,5	8-18
Yapraklı ürünler ^(b)	200 g	450 BPW ISO (önceden ısıtılmış)	41,5	18-24
Meyve ^(b) , sebzeler, meyve/sebze suları, taze otlar, ham deniz ürünleri, çiğ yumurta, çiğ süt, kurabiye hamuru ve işlenmiş et dahil diğer gıdalar	25 g	225 BPW ISO (önceden ısıtılmış)	41,5	18-24
Ceviz veya ceviz içeren kabuklu yemiş karışımları (bu protokol pıkan cevizi, badem, antep fıstığı, kaju fıstığı ve kestane gibi diğer kabuklu yemişler için uygundur)	25 g	225 sulandırılmış yağsız süt tozu	41,5	18-24

(a) Dondurulmuş numuneler, zenginleştirme besiyerine eklenmeden önce $4-8^\circ\text{C}$ 'ye getirilmelidir.

(b) Yapraklı ürün ve meyve numuneleri, 5 dakika boyunca hafifçe elle ajite edilmelidir. Harmanlama veya sindirme işleminden geçirmeyin.

Valide Edilmiş Yöntemler İçin Özel Talimatlar

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

AOAC Official Method of AnalysisSM programında 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) ürününün, *E. coli* O157:H7 tespiti için etkili bir yöntem olduğu bulunmuştur. Çalışmada test edilen matrisler Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. AOAC® Official MethodsSM 2017.01'e göre $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de önceden ısıtılmış BPW ISO kullanılan zenginleştirme protokolleri

Numune Matrisi	Numune Boyutu	Zenginleştirme Besiyerinin Hacmi (mL)	Zenginleştirme Süresi (saat)	Homojenize
Ham dana kıyma (%73 yağsız)	325 g	975	10-18	Elle ya da Sindirerek
Ham torbalı ıspanak ^(a)	200 g	450	18-24	5 dakika boyunca yavaşça elle ajite edin, homojenize etmeyin
Taze lahana	25 g	225	18-24	5 dakika boyunca yavaşça elle ajite edin, homojenize etmeyin
Dondurulmuş yabamersini ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	5 dakika boyunca yavaşça elle ajite edin, homojenize etmeyin

(a) Yapraklı ürün ve meyve numuneleri, 5 dakika boyunca hafifçe elle ajite edilmelidir. Harmanlama veya sindirme işleminden geçirmeyin.

(b) Dondurulmuş numuneler, zenginleştirme besiyerine eklenmeden önce $4-8^\circ\text{C}$ 'ye getirilmelidir.

AFNOR Certification ile NF Validation



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Validasyonun bitiş tarihi ve geçerliliği ile ilgili daha fazla bilgi için lütfen yukarıda bahsi geçen web sitesindeki NF VALIDATION sertifikasına bakın.

ISO 16654⁽³⁾ ile kıyaslandığında ISO 16140-2⁽⁶⁾ uyarınca NF VALIDATION Sertifikalı yöntem

Validasyonun kapsamı: Ham dana eti, ham süt ürünleri, ham meyveler ve sebzeler

Numune hazırlama: Numuneler EN ISO 16654 ve EN ISO 6887⁽⁶⁾'ye uygun şekilde hazırlanmalıdır

Yazılım Sürümü: Sertifikaya bakın

Tablo 4. NF VALIDATION sertifikalı yöntem 3M 01/18-05/17'ye göre 41,5±1°C'de önceden ısıtılmış BPW ISO kullanılan zenginleştirme protokolleri

Protokol	Numune Boyutu	Zenginleştirme Besiyerinin Hacmi (mL)	Zenginleştirme Sıcaklığı (±1°C)	Zenginleştirme Süresi (saat)
Ham süt ürünleri, ham meyveler ve ham sebzeler	25 g	225	41,5	18-24
Ham dana eti	25 g	225	41,5	8-24

NOTLAR:

- 25 g'dan büyük örnekler NF VALIDATION çalışmasında test edilmemiştir.
- Önerilen protokol kesinti noktaları, zenginleştirmeden sonra veya numune lizisinden sonradır. Zenginleştirme besiyeri veya numune lizatı 2-8°C'de 72 saate kadar saklanabilir. Zenginleştirme besiyerini saklama ortamından çıkardıktan sonra, **Lizis** kısmındaki 1. adımdan itibaren teste devam edin. Numune lizatını saklama ortamından çıkardıktan sonra, **Lizis** kısmındaki 7. adımdan itibaren teste devam edin. Lizat, -20°C'de de saklanabilir.
- Kısa zenginleştirme protokolleri, inkübasyon koşullarına karşı hassastır ve protokolda belirtilen sıcaklıklara uyulmalıdır. Su banyosunun veya besiyerlerinin önceden ısıtıldığı inkübatörün sıcaklığı, zenginleştirme besiyerinin gerekli olan sıcaklığa ulaşmasını sağlamak için doğrulanmalıdır. Ortamı önceden ısıtma adımının sonu ile gıda numunesinin inkübasyonunun başlangıcı arasındaki gecikme de dahil olmak üzere numune hazırlama için toplam süre 45 dakikayı geçmemelidir. Inkübasyon sırasında havalandırmalı bir inkübatörün kullanılması önerilir.

3M™ Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'nin Hazırlanması

1. Bir bezi veya tek kullanımlık havluyu %1-5 (suda v:v) çamaşır suyu çözeltisiyle ıslatın ve 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni silin.
2. 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni su ile durulayın.
3. 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni silmek için tek kullanımlık bir havlu kullanın.
4. Kullanmadan önce, 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'nin kuru olduğundan emin olun.

3M™ Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'nın Hazırlanması

3M Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'nı doğrudan laboratuvar tezgahına yerleştirin: 3M Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Tepsisi kullanılmaz. Bloğu laboratuvar ortam sıcaklığında kullanın (20-25°C).

3M™ Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın Hazırlanması

3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nı kuru, çift bloklu bir ısıtma ünitesine yerleştirin. Kuru bloklu ısıtma ünitesini çalıştırın ve 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın 100±1°C'lik bir sıcaklığa ulaşmasını ve bu sıcaklığı korumasını sağlamak için sıcaklığı ayarlayın.

NOT: Isıtma ünitesine bağlı olarak, 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın istenen sıcaklığa ulaşması için yaklaşık 30 dakika bekleyin. Belirlenen yere yerleştirilmiş uygun, kalibre edilmiş bir termometre (ör. tamamen daldırılmalı termometre değil, kısmi daldırılmalı termometre veya dijital sıcaklık sensörlü termometre) kullanarak 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de olduğunu doğrulayın.

3M™ Moleküler Tayin Cihazı'nın Hazırlanması

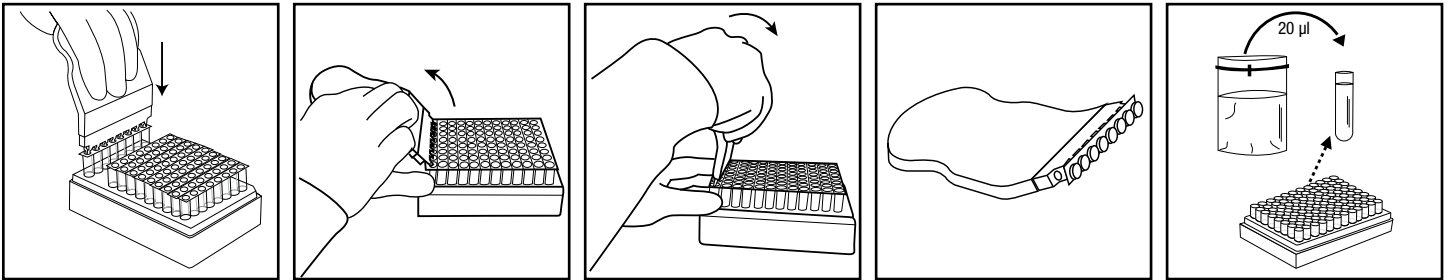
1. 3M™ Moleküler Tayin Yazılımı'nı başlatın ve giriş yapın. Yazılımın en güncel sürümüne sahip olduğunuzdan emin olmak için 3M Food Safety temsilcisiyle temas kurun.
2. 3M Moleküler Tayin Cihazı'nı çalıştırın.
3. Her bir numunenin verisiyle bir test oluşturun veya düzenleyin. Ayrıntılar için bkz. 3M™ Moleküler Tayin Sistemi Kullanım Kılavuzu.

NOT: Reaksiyon tüpleri ile birlikte 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi yerleştirilmeden önce, 3M Moleküler Tayin Cihazı'nın sıcaklığı 60°C 'ye ulaşmalı ve bu sıcaklık korunmalıdır. Bu ısınma aşaması yaklaşık 20 dakika sürer ve cihazın durum çubuğunda TURUNCU bir ışıkla gösterilir. Cihaz bir çalışmayı başlatmaya hazır olduğunda, durum çubuğu YEŞİL renge döner.

Lizis

1. Rafı bir gece boyunca (16-18 saat) oda sıcaklığında ($20-25^\circ\text{C}$) bekleterek 3M Lizis Solüsyonu tüplerinin ısınmasını sağlayın. 3M Lizis Solüsyonu tüplerini oda sıcaklığına getirmek için alternatifler, 3M Lizis Solüsyonu tüplerini en az 2 saat laboratuvar tezgahında bekletmek, 3M Lizis Solüsyonu tüplerini inkübatörde 1 saat boyunca $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de inkübe etmek veya kuru çift bloklu bir ısıtıcıya 100°C 'de 30 saniyelikine yerleştirmektir.
2. Karıştırmak için kapaklı tüpleri ters çevirin. 4 saat içinde sıradaki adıma geçin.
3. Zenginleştirme besiyerini inkübatörden çıkarın.
4. Her numune ve Negatif Kontrol (NC) numunesi (steril zenginleştirme ortamı) için bir 3M Lizis Solüsyonu tüpü gereklidir.
 - 4.1 3M Lizis Solüsyonu tüp şeritleri, istenen 3M Lizis Solüsyonu tüp sayısı kadar kesilebilir. İhtiyaç duyulan sayıda ayrı 3M Lizis Solüsyonu tüpü veya 8 tüplük şeritler seçin. 3M Lizis Solüsyonu tüplerini boş bir rafa koyun.
 - 4.2 Çapraz kontaminasyonu önlemek için 3M Lizis Solüsyonu tüp şeritlerinin kapaklarını teker teker açın ve her aktarım aşaması için yeni bir pipet ucu kullanın.
 - 4.3 Aşağıda açıklandığı gibi, zenginleştirilmiş numuneyi 3M Lizis Solüsyonu tüplerine aktarın:

İlk olarak, her bir zenginleştirilmiş numuneyi ayrı bir 3M Lizis Solüsyonu tüpüne aktarın. Son olarak NC'yi aktarın.
 - 4.4 Tek seferde bir şerit üzerinde çalışarak, 3M Lizis Solüsyonu tüp şeridinin kapağını sökmek için 3M™ Moleküler Tayin Kapak Takma / Kapak Sökme Aracı - Lizis'i kullanın.
 - 4.5 3M Lizis Solüsyonu tüp kapağını atın - Lizat tekrar test edilmek üzere tutulacaksa lizisten sonra tekrar uygulama için kapakları temiz bir kaba koyun.
 - 4.5.1 Elde bulunan lizatın işlenmesi için Ek A'ya bakın.
 - 4.6 Protokol Tabloları 2, 3 ve 4'te aksi belirtilmediği sürece $20 \mu\text{L}$ numuneyi 3M Lizis Solüsyonu tüpüne aktarın.



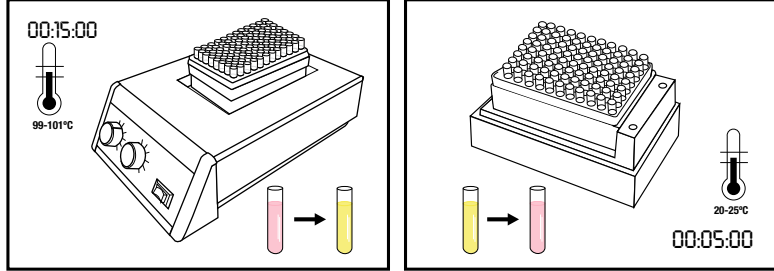
5. Her bir ayrı numune şeritteki ilgili 3M Lizis Solüsyonu tüpüne eklenene kadar 4.3 adımı tekrarlayın.
6. Test edilecek numune sayısı için 4.1 ila 4.6 adımlarını gerektiği şekilde tekrar edin.
7. Tüm numuneler aktarıldığında, $20 \mu\text{L}$ NC'yi (BPW ISO gibi steril zenginleştirme ortamı) bir 3M Lizis Solüsyonu tüpüne aktarın. NC olarak su kullanmayın.
8. 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası sıcaklığının $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de olduğunu doğrulayın.

9. Üstü açık 3M Lizis Solüsyonu tüpleri rafını 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'na yerleştirin ve 15±1 dakika boyunca ısıtın. Isıtma boyunca, 3M Lizis solüsyonunun rengi pembeden (soğuk) sarıya (sıcak) dönecektir.

Lizis test aşaması sırasında doğru şekilde ısıtılmalı tutulmayan numuneler, olası bir biyolojik tehlike olarak düşünülebilir ve 3M Moleküler Tayin Cihazı'na YERLEŞTİRİLMEMELİDİR.

10. Üstü açık 3M Lizis Solüsyonu tüplerinin rafını ısıtma bloğundan çıkarın ve 3M Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'nda en az 5, en fazla 10 dakika soğumasını bekleyin. 3M Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Tepsisi olmadan oda sıcaklığında kullanılan 3M Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası, laboratuvar tezgahına doğrudan yerleştirilmelidir. Soğuduğunda, lizis solüsyonunun rengi tekrar pembeye dönecektir.

11. 3M Lizis Solüsyonu tüp rafını 3M Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'ndan çıkarın.



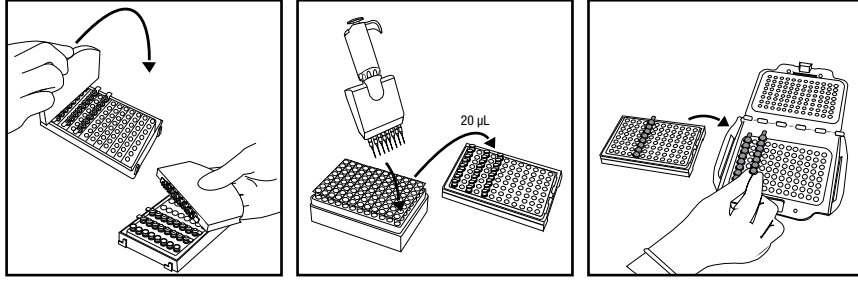
Amplifikasyon

- Her bir numune ve NC için bir 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüpü gereklidir.
 - Tüp şeritleri istenen tüp sayısı kadar kesilebilir. Gerekli 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüplerinin veya 8'li tüp şeritlerinin sayısını seçin.
 - 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüplerini boş bir rafa yerleştirin.
 - Tüplerin dip tarafındaki reaktif pelletlerini karıştırmaktan kaçının.
- Bir adet 3M Reaktif Kontrolü tüpü seçin ve rafa yerleştirin.
- Çapraz kontaminasyonu önlemek için tek seferde yalnızca bir 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüpü şerit kapağını açın ve her aktarım aşaması için yeni bir pipet ucu kullanın.
- Lizatı 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüpü ile 3M Reaktif Kontrolü tüpüne aşağıda açıklanan şekilde aktarın:

Her bir numune lizatını **önce** bir 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüpüne, ardından NC'ye aktarın. 3M Reaktif Kontrolü tüpünü **en son** hidratlayın.

- 3M™ Moleküler Tayin Kapak Takma / Kapak Sökme Aracı - Reaktif'i kullanarak, 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüpünün kapağını, tek seferde tek tüp şeridi olacak şekilde çıkarın. Kapağı atın.
 - 20 µL numune lizatını, 3M Lizis Solüsyonu tüpündeki sıvının ½'lik üst kısmından (çökeltiyi önleyerek) ilgili 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüpüne aktarın. Pelletlerin karışmasını önlemek için açılı olarak dökün. Yukarı ve aşağı 5 kez pipetleyerek nazikçe karıştırın.**
 - Şeritte karşılık gelen 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüpüne her bir lizat numunesi eklenene kadar adım 5.1'i tekrarlayın.
 - 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüplerini, tedarik edilen ilave kapaklar ile kapatın ve kapağın sıkı bir şekilde kapatıldığından emin olmak amacıyla, ileri geri hareketle basınç uygulamak üzere 3M Moleküler Tayin Kapak Takma / Kapak Sökme Aracı - Reaktif'inin yuvarlak tarafını kullanın.
 - Test edilecek numune sayısı için 5.1 ile 5.3 adımlarını gerektiği şekilde tekrar edin.
 - Tüm lizat numuneleri aktarıldığında, adım 5.1 ile 5.3'ü tekrarlayarak 20 µL NC lizatı bir 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüpüne aktarın.
 - 20 µL NC lizatı bir 3M Reaktif Kontrolü tüpüne** aktarın. Pelletlerin karışmasını önlemek için açılı olarak dökün. Yukarı ve aşağı 5 kez pipetleyerek nazikçe karıştırın.

6. Kapağı takılmış olan tüpleri temiz ve dekontamine edilmiş bir 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ne yükleyin. Sonra kapatın ve kapağı kilitleyin.



7. 3M Moleküler Tayin Yazılımı'nda yapılandırılmış çalışmayı gözden geçirin ve onaylayın.
 8. Yazılımdaki Start (Başlat) düğmesine tıklayın ve kullanılacak cihazı seçin. Seçilen cihazın kapağı otomatik olarak açılır.
 9. 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni 3M Moleküler Tayin Cihazı'na yerleştirin ve testi başlatmak üzere kapağı kapatın. Pozitif sonuçlar daha önce tespit edilebilmekle beraber, sonuçlar 60 dakika içinde elde edilir.
 10. Test tamamlandıktan sonra, 3M Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni 3M Moleküler Tayin Cihazı'ndan çıkarın ve tüpleri 1 saat boyunca %1-5'lik (suda v:v) çamaşır suyu çözeltisine daldırarak test hazırlık alanından uzakta imha edin.

BİLDİRİM: Çapraz kontaminasyondan kaynaklanan yanlış pozitif sonuçların elde edilmesi riskini en aza indirmek için amplifiye edilmiş DNA'yı içeren reaktif tüplerini hiçbir zaman açmayın. Buna 3M Reaktif Kontrolü, 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) Reaktif Tüpü ile 3M Matris Kontrol Tüpleri dahildir. Ağız sızdırmaz bir şekilde kapatılmış reaktif tüplerini, her zaman %1-5'lik (suda v:v) bir çamaşır suyu çözeltisinde 1 saat süreyle bekleterek ve test hazırlık alanından uzakta imha edin.

Sonuçlar ve Yorumlama

Bir algoritma, nükleik asit amplifikasyonu tayininden kaynaklanan ışık çıkışı eğrisini yorumlar. Sonuçlar yazılım tarafından otomatik olarak analiz edilir ve sonuca göre renk kodlamasına tabi tutulur. Benzersiz eğri parametreleri sayısı analiz edilerek Pozitif veya Negatif bir sonuç belirlenir. Negatif sonuçlar ve Kontrol sonuçları çalışma tamamlandıktan sonra gösterilirken, olası pozitif sonuçlar gerçek zamanlı olarak bildirilir.

Olası pozitif numuneler, birincil BPW ISO zenginleştirmeden ikincil zenginleştirme besiyerine/besiyerlerine aktarılması, ardından kaplama ve uygun biyokimyasal ve serolojik yöntemler kullanılarak izolatların onaylanması gibi işlemlerle başlayarak standart laboratuvar prosedürlerine veya uygun referans doğrulama yöntemine^(1,2,3) uygun şekilde doğrulanmalıdır.

NOT: Sistem ve 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) amplifikasyon reaktifleri bir "arka plan" bağılı ışık birimi (RLU) değerine sahip olduğu için negatif bir numune bile sıfır okuma sonucu vermeyecektir.

Nadir olarak olağan dışı ışık çıkışı durumunda, algoritma bu durumu "Kontrol" olarak etiketler. 3M, tüm Kontrol numuneleri için kullanıcının testi tekrarlamasını önerir. Kontrol sonucu almaya devam ederseniz tercih ettiğiniz yöntemi kullanarak veya yerel düzenlemeler ile belirlendiği şekilde, doğrulama testine geçin.

Uyumsuz sonuçlar halinde (3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) ile olası pozitif, yukarıda tanımlanan yöntemlerden biri ile doğrulanmamış ve özellikle lateks aglütinasyon testi için) laboratuvar, elde edilen sonuçların geçerliliğini doğrulamak için gerekli adımları izlemelidir.

NF VALIDATION Sertifikalı Yönteme göre Sonuçların Doğrulanması

NF VALIDATION kapsamında 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) ile pozitif olarak tanımlanan tüm numuneler, aşağıdaki testlerden biri ile doğrulanmalıdır:

1. seçenek: Tamponlanmış peptonlu su⁽³⁾ zenginleştirmesinden başlayarak ISO 16654⁽³⁾ standardının kullanılması.

2. seçenek: Aşağıdakileri içeren bir doğrulama yönteminin uygulanması: 50 µL tamponlanmış peptonlu su⁽³⁾ zenginleştirmesini bir Sefixim Potasyum Tellürit Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾ agar petrisine sürün. 24±3 saat 37°C'de inkübe edin. Karakteristik kolonileri besin agarının üzerine sürün ve doğrudan izole kolonilerin üzerinde lateks aglütinasyon testi gerçekleştirin. 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) sonuçları doğrulanmamışsa, bir immünomanyetik ayırma adımı uygulayın ve daha sonra 50 µL'yi CT-SMAC üzerine sürün.

3. seçenek: CT-SMAC'den izole edilmiş kolonilerde (saf ya da değil) uygulanan, EN ISO 7218⁽⁵⁾ standardında tarif edilen şekilde nükleik asit problemlerini kullanma (bkz. 1. veya 2. seçenek). Nükleik asit problemleri, 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) için kullanılanlardan farklı olmalıdır.



4. seçenek: Prensibi 3M Moleküler Tayin Testi 2 - *E. coli* O157 (H7 Dahil) ürününden farklı olması gereken başka bir NF VALIDATION onaylı yöntemi kullanarak. Bu ikinci doğrulanmış yöntem için açıklanan tüm protokol kullanılmalıdır. Doğrulamaya başlamadan önceki tüm adımlar her iki yöntemde de ortak olmalıdır.

Uyumsuz sonuçlar halinde (alternatif yöntem ile olası pozitif, yukarıda tanımlanan yöntemlerden biri ile doğrulanmamış) laboratuvar, elde edilen sonucun geçerliliğini doğrulamak için gerekli adımları izlemelidir.

Belirli uygulamalar veya prosedürler hakkında sorularınız varsa www.3M.com/foodsafety adresindeki web sitemizi ziyaret edin veya yerel 3M temsilcisi ya da distribütörü ile iletişim kurun.

Ek A. Protokol Kesintisi: Saklama ve numunelerin tekrar test edilmesi

1. Isıl işlem görmüş lizatı saklamak için lizis tüpünü temiz bir kapakla kapatın (bkz. **Lizis** bölümü, 4.5).
2. Zenginleştirilmiş bir numuneyi saklamak için, saklama öncesinde en az 18 saat boyunca inkübe edin.
3. 72 saate kadar 4-8°C sıcaklıkta saklayın.
4. Saklanan numuneyi, karıştırmak üzere 2-3 kez ters yüz ederek amplifikasyon için hazırlayın.
5. Tüplerin kapaklarını çıkarın.
6. Karıştırılan lizat tüplerini 3M Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası üzerine yerleştirin ve 5±1 dakika 100±1°C'de ısıtın.
7. 3M Lizis Solüsyonu tüplerinin rafını ısıtma bloğundan çıkarın ve 3M Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'nda en az 5, en fazla 10 dakika soğumasını bekleyin.
8. Protokole, yukarıda detayları verilen **Amplifikasyon** bölümünden devam edin.

Referanslar:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Sembollerin Açıklaması

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2



製品情報

病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む)

製品の概要および用途

3M™病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) は、3M™分子検出システムを用いて前増菌培養した食品や飼料検体中の *E. coli* O157 (H7含む) を迅速かつ特異的に検出するときに使用します。

3M病原菌検出アッセイは、増幅した菌を検出するために、高い特異性と感度で核酸配列を迅速に増幅するLAMP法と、生物発光を組み合わせています。推定陽性結果はリアルタイムに表示され、陰性結果は検査が完了してから表示されます。結果が陽性と推定される場合は、任意の別の方法または行政の規制によって指定された通りに確認する必要があります^(1,2,3)。

3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) は、検査技術の訓練を受けた技術者が検査室環境で使用することを想定しています。3Mは、食品または飲料以外の産業における本製品の使用に関しては検証しておりません。たとえば、3Mは、本製品を環境、医薬品、化粧品、臨床または動物検体の検査に使用することについては検証しておりません。3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) は、考えられるすべての食品や食品製造工程、検査プロトコル、あるいは考えられるすべての菌株について評価されたわけではありません。

すべての検査法と同様に、前増菌培地のメーカーや組成、品質などの要因が結果に影響する場合があります。採取方法、検査プロトコル、検体の調製、取り扱い、および検査手技などの要因が結果に影響する場合があります。3Mは、検査方法がお客様の基準を確実に満たすことを確認するために、お客様の環境において、特定の食品および微生物負荷生菌保存効力テスト(チャレンジテスト)を用いて十分な数の検体で、前増菌培地を含む検査方法を評価することをお勧めします。

3Mは、緩衝ペプトン水 ISO 3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) を評価しました。

3M™分子検出装置は、アッセイのライシスステップ中に熱処理を行った検体を測定することを目的としており、検体中に存在する微生物を破壊するように設計されています。アッセイのライシスステップ中に適切な熱処理を行っていない検体は、潜在的バイオハザードとみなされる可能性がありますので、3M分子検出装置には入れないでください。

3M食品安全性部門は、設計と製造についてISO (国際標準化機構) 9001認証を取得しています。

3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 検査キットは、表1に記載のとおり96検体用となっています。

表1.3M病原菌検出アッセイキットの内容

品目	特徴	数量	内容	コメント
3M™ライシス溶液 (LS)	クリアチューブに入ったピンク色の溶液	96テスト分 (8連チューブ12セット)	チューブ1本につき3Mライシス溶液580 μL	ラック入り、調製済み
3M™病原菌検出アッセイ2 - <i>E. coli</i> O157 (H7含む) 試薬チューブ	ピンク色チューブ	96テスト分 (8連チューブ12セット)	凍結乾燥特異的増幅試薬および検出試薬	調製済み
予備キャップ	ピンク色キャップ	96検体分 (8連キャップ12セット)		調製済み
3M™試薬コントロール (RC)	フリップトップ式クリアチューブ	16テスト分 (チューブ8本入り2パウチ)	凍結乾燥コントロールDNA、増幅試薬および検出試薬	調製済み
クイックスタートガイド		1		

陰性コントロール(キットには付属しません)は、BPW ISOなどの滅菌済前増菌培地です。水は陰性コントロールとして使用しないでください。

安全性

3M分子検出システムおよび3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) の製品情報に記載のすべての安全情報を読み、理解し、遵守してください。また、今後参照できるように、この安全性指示を保管しておいてください。

▲ **警告:** 警告は、それを避けなければ死亡または重篤な傷害ないし物的損害が発生しうる危険な状況を示します。

注記: 回避できない場合、物的損害が起こり得る危険な状況を示します。

▲ 警告

3M病原菌検出アッセイ2 - E. coli O157 (H7含む) は、ヒトまたは動物の病態診断に使用しないでください。

検査実施担当者に適切な検査技術を身につけるように指導してください(例:GLP、ISO/IEC 17025⁽⁴⁾、ISO 7218⁽⁵⁾)。

汚染製品の出荷につながる偽陰性結果に伴うリスクを回避するために:

- プロトコルに従い、製品情報に記載のとおり検査を行ってください。
- あらかじめ41.5±1°Cに加熱した培地を使用してください。検体調製中、培地が培養温度範囲を下回らないようにしてください。
- 3M病原菌検出アッセイ2 - E. coli O157 (H7含む) は、外箱表示および製品情報に記載のとおり保管してください。
- 3M病原菌検出アッセイ2 - E. coli O157 (H7含む) は、必ず有効期限までに使用してください。
- 3M病原菌検出アッセイ2 - E. coli O157 (H7含む) は、社内または第三者による検証を行った食品、飼料、食品加工環境検体に使用してください。
- 3M病原菌検出アッセイ2 - E. coli O157 (H7含む) は、社内または第三者によるバリデーションが行われた表面、殺菌剤、プロトコル、菌株のみに使用してください。
- アリルスルホン酸塩添加中和緩衝液 (NB) を含む環境検体については、試験前に1:2の希釈 (検体1に対して滅菌前増菌ブロス1) を行ってください。別の方法としては、中和緩衝液前増菌ブロス10 µLを3Mライシスチューブに滴下します。3M™検体処理製品のうち、3M™アリルスルホン酸塩添加中和緩衝液を含む製品は、BPPFV10NB、RS96010NB、RS9604NB、SSL10NB、XSLSSL10NB、HS10NB、HS119510NBです。

化学物質およびバイオハザードへの暴露に伴う危険を回避するために:

- 技能訓練を受けた検査実施担当者の管理下で、適切な設備のある検査室にて病原菌検査を行ってください。培養済み前増菌培地および培養済み前増菌培地と接触する機器または接触面には、人体に有害となりうる量の病原菌が含まれている可能性があります。
- 試薬および汚染された検体を取り扱う際は、適切な保護衣、保護メガネの装着など、標準的な検査室の安全手順に常に従ってください。
- 前増菌後の培地や、増幅後の試薬チューブ内容物には触れないでください。
- 現行の行政基準および産業基準に従って、前増菌された検体や関連する汚染された廃棄物を廃棄してください。
- ヒーターの温度設定を推奨温度以上にしないでください。
- 推奨される加熱時間を超えないでください。
- 適切な較正済みの温度計を使用して、3M™分子検出ヒートブロックインサートの温度を確認してください(例:浸線付温度計またはデジタル熱電対温度計。全浸没温度計は使用しないこと)。温度計は、必ず3M分子検出ヒートブロックインサートの指定の部位に設置してください。

アッセイ準備中の交差汚染に伴う危険を回避するために:

- 手袋を必ず着用してください(ユーザー保護と遺伝子の混入を避けるため)。

高温の液体への暴露に伴う危険を回避するために:

- ヒーターの温度設定を推奨温度以上にしないでください。
- 推奨される加熱時間を超えないでください。
- 適切な較正済みの温度計を使用して、3M™分子検出ヒートブロックインサートの温度を確認してください(例:浸線付温度計またはデジタル熱電対温度計。全浸没温度計は使用しないこと)。温度計は、必ず3M分子検出ヒートブロックインサートの指定の部位に設置してください。

注記

アッセイ準備中の交差汚染に伴う危険を回避するために:

- 滅菌済みのエアロゾルバリア材(フィルター付)、分子生物学グレードのピペットチップの使用を推奨します。
- 検体ごとに新しいピペットチップを使用してください。
- GLP (医薬品安全性試験実施基準) に従って検体を前増菌ブロスからライシスチューブに移してください。ピペットの汚染を回避するため、中間的な滴下ステップを追加することもできます。例えば、前増菌された各検体を滅菌チューブに滴下することができます。
- 利用可能な場合は、殺菌灯が装備された分子生物取扱エリアを使用してください。

偽陽性の結果に伴う危険を回避するために:

- 増幅後のチューブは絶対に開けないでください。
- 汚染されたチューブは、常に、水で1-5% (v/v) に希釈したの家庭用漂白液に1時間浸漬した後、アッセイの準備作業領域から隔離して、廃棄してください。

廃棄に関する詳細および行政の規制については、安全データシートをご参照ください。

具体的な用途や手順についてご質問がありましたら、当社のウェブサイト (www.3M.com/foodsafety) をご覧いただくか、3M販売担当者または取り扱い販売店までお問い合わせください。

お客様の使用責任

お客様には、使用前に製品説明書および製品情報を熟知していただく責任があります。詳細につきましては、当社ウェブサイト www.3M.com/foodsafety をご覧いただくか、担当の3M販売担当者または販売店にお問い合わせください。

検査方法を選択する際には、検体採取方法、検査プロトコル、検体調製、取り扱い、および検査手技などの外的要因が結果に影響しうることを認識することが重要です。

検査方法または製品を選択する際に、適切な基質および微生物負荷を用いて十分数の検体を評価して、選択した試験方法がお客様の基準を満たすことをお客様の責任でご確認ください。

また、検査方法および結果が顧客または供給業者の要件を満たしているかについても、事前にお客様の責任でご確認ください。

どの検査方法を使用した場合でも、3M食品安全性製品を用いて得られた結果は、検査を実施した食品基質または工程の品質を保証するものではありません。

各種食品基質の検査方法の評価にご利用いただくため、3Mでは3M™分子検出マトリックスコントロールキットをご用意しました。必要に応じて、基質コントロール (MC) を使用し、対象基質が3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 用の検査結果に影響を及ぼすかどうかを判定してください。3Mの検査法を採用する場合、または新規や由来の不明な基質、あるいは原材料または工程が変更された基質を検査する場合は、バリデーション期間中に、基質を代表する複数の検体 (由来の異なる検体) を検査してください。

基質は、成分や工程など固有の特性を備える製品の種類として定義されます。基質間の違いは、加工や外観 (例: 未加工か滅菌済みか、新鮮か乾物か、等) の違いに起因する結果と同じように単純な場合があります。

保証の範囲 / 賠償の制限

個々の製品パッケージの限定保証条項に明示されている場合を除き、3Mは明示または黙示を問わず、商品性または特定の目的への適合性に関する保証を含むがこれに限定されない、いかなる種類の保証も負いかねます。3M食品安全性部門の製品に欠陥があった場合、3Mまたは指定販売店で交換あるいは製品購入価格の払い戻しをいたします。対応は上記のみとさせていただきます。製品の欠陥が疑われる場合は、判明した時点から60日以内に速やかに3Mに通知し、製品を3Mに返品する必要があります。返品可否についてはカスタマーサービス (米国内は1-800-328-1671) にお電話にてご連絡いただくか、担当の公式3M食品営業安全性販売員までお問い合わせください。

3Mの保証責任範囲

3Mは、直接的、間接的、特殊なもの、偶発的または必然的であるかを問わず、利益損失を含むがこれに限定されないあらゆる損失または損害に対する責任を負わないものとします。いかなる場合も、いかなる法的理論の下でも、3Mの保証責任範囲は、欠陥と申し立てられた製品の購入金額を超えないものとします。

保管と廃棄

3M病原菌検出アッセイ2 *E. coli* O157 (H7含む) は2-8°Cで保管し、冷凍しないでください。暗所で保管してください。キット開封後は、ホイルパウチが破損していないことを確認してください。パウチが破損している場合は、使用しないでください。開封後、使用しない試薬チューブは、凍結乾燥試薬の安定性を保つため、乾燥剤と共に再密閉可能なパウチ内に必ず保管してください。再密閉したパウチは2-8°Cで、60日間保存することができます。

有効期限が過ぎた3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) は使用しないでください。使用期限とロット番号は箱の外側のラベルに記載しています。使用后、前増菌培地および3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) には病原性の物質が含まれている可能性があります。検査終了後は、汚染廃棄物に関する現行の業界基準に従って廃棄してください。廃棄に関する詳細および行政の規制については、安全データシートをご参照ください。

使用方法

すべての指示に、注意深く従ってください。従わない場合、正確な結果が得られないことがあります。

ユーザーは、「3M分子検出システムの据付時適格性 (IQ) / 運転時適格性 (OQ) プロトコルと手順」⁽⁷⁾ に記載のとおり、3M分子検出システムのオペレーター資格トレーニングを受講する必要があります。

検査室の作業台および備品 (ピペット、キャップ / デキャップツール等) は、水で1-5% (v/v) に希釈したの家庭用漂白液またはDNA除去用液を使用して定期的に除染してください。

具体的な要件については、「バリデーション済みの方法」の項を参照してください。

表3. AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01に基づく前増菌プロトコル

表4. NF VALIDATION 3M 01/18-05/17に基づく前増菌プロトコル

検体の前増菌

表2、3、4には、食品を前増菌する場合のガイダンスを示しています。この検査法がお客様の基準に合致するかを確かめるため、別の採取プロトコルまたは希釈率でバリデーションしていただき、お客様の責任で使用の可否をご判断ください。

食品

1. BPW ISO前増菌培地を41.5±1°Cにあらかじめ加熱します。
2. 表2、3、4に基づいて、前増菌培地と検体を無菌的に混合します。すべての肉検体および微粒子を多く含む検体に関しては、フィルターバッグの使用を推奨します。
3. 葉状作物や果実以外のすべての基質を、ブレンダー、ストマッキング、または手作業で2±0.2分間、よくホモジナイズします。表2、3、4に基づいて、適切な時間について41.5±1°Cで培養します。

表2. 一般的な前増菌プロトコル

検体基質 ^(a)	検体量	前増菌プロス量 (mL)	前増菌温度 (±1°C)	前増菌時間 (時間)
生の牛ひき肉、および切り身肉	325 g	975 BPW ISO (加温済み)	41.5	10-18
牛肉、豚肉、鶏肉、ラム肉、バイソン肉などの生肉	25 g	225 BPW ISO (加温済み)	41.5	8-18
葉状作物 ^(b)	200 g	450 BPW ISO (加温済み)	41.5	18-24
果実 ^(b) 、野菜、果実や野菜ジュース、フレッシュハーブ、生の魚介類、生卵、原乳、クッキー生地、および加工肉などの、その他食品	25 g	225 BPW ISO (加温済み)	41.5	18-24
クルミ、またはクルミを含むミックスナッツ(このプロトコルは、ピーカンナッツ、アーモンド、ピスタチオ、カシューナッツ、栗などのその他ナッツ類にも有効)	25 g	225 還元乳 無脂肪乾燥ミルク	41.5	18-24

(a) 冷凍検体は、前増菌プロスへ添加する前にあらかじめ4-8°Cに戻しておいてください。

(b) 葉状作物や果実検体は、手作業で5分間、静かに攪拌してください。ブレンダーやストマッキングを使用しないでください。

バリデートされた方法に関する具体的な指示

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

AOAC Official Method of AnalysisSM プログラムにおいて、3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) は *E. coli* O157:H7の検出に有効な方法であることが確認されています。上記試験において検査の対象となった基質を表3に掲載します。

表3. AOAC® Official MethodsSM 2017.01に基づいて、あらかじめ41.5±1°Cに加熱したBPW ISOを使用した前増菌プロトコル

検体マトリックス	検体量	前増菌プロス量 (mL)	前増菌時間 (時間)	ホモジナイズ
生の牛ひき肉 (73%除脂肪)	325 g	975	10-18	手作業またはストマッキング
生の袋詰めされたハウレン草 ^(a)	200 g	450	18-24	手動で5分間静かに攪拌し、ホモジナイズしない
フレッシュスプラウト	25 g	225	18-24	手動で5分間静かに攪拌し、ホモジナイズしない
冷凍ブルーベリー ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	手動で5分間静かに攪拌し、ホモジナイズしない

(a) 葉状作物や果実検体は、手作業で5分間、静かに攪拌してください。ブレンダーやストマッキングを使用しないでください。

(b) 冷凍検体は、前増菌プロスへ添加前にあらかじめ4-8°Cに戻しておいてください。

AFNOR CertificationによるNF Validation



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

有効性の終了についての詳細は、上記のウェブサイト上で入手できるNF Validation認証を参照してください。

NF VALIDATIONにより認証された方法は、ISO 16654⁽³⁾よりもISO 16140-2⁽⁶⁾に準拠しています

バリデーションの範囲:生の牛肉、原乳製品、生鮮果実および野菜

検体の調製:検体EN ISO 16654およびEN ISO 6887⁽⁶⁾に従って調製してください

ソフトウェアバージョン:認定証を参照してください

表4. NF VALIDATION certified method 3M 01/18-05/17に基づいて、あらかじめ 41.5 ± 1°C に加熱したBPW ISOを使用した前増菌プロトコル

プロトコル	検体量	前増菌プロス量 (mL)	前増菌温度 (±1°C)	前増菌時間 (時間)
原乳製品、生鮮果物および生鮮野菜	25 g	225	41.5	18-24
生の牛肉	25 g	225	41.5	8-24

注記:

- 25 g以上の検体は、NF VALIDATION検査で評価されていません。
- 推奨されるプロトコル中断ポイントは、前増菌後または検体溶解後です。前増菌プロスまたは検体溶解物は、2-8°Cで最大72時間保管することができます。前増菌プロスを保管場所から取り出したら、**ライシス**セクションのステップ1から再開してください。検体ライシスを保管場所から取り出したら、**ライシス**セクションのステップ7から再開してください。溶菌液は-20°Cでも保管可能です。
- 短期前増菌プロトコルは培養条件に敏感なため、プロトコルで指定された温度に必ず従ってください。プロスを予熱するウォーターバスや培養器の温度は、前増菌プロスが可能な温度に達するよう、確認する必要があります。培地の予熱ステップ終了時から食品検体の培養開始までの間のロスタイムなど、検体調製にかかる時間が45分を超えないようにしてください。培養中は、換気装置つき培養器を使用することを推奨します。

3M™分子検出スピードローダートレイの準備

- 水で1-5% (v/v) に希釈したの家庭用漂白液で湿らせた布か使い捨て用タオルを使って、3M 分子検出スピードローダートレイを拭きます。
- 水で3M 分子検出スピードローダートレイを濯ぎます。
- 使い捨てペーパータオル等で、3M 分子検出スピードローダートレイを拭きます。
- 使用前に、3M 分子検出スピードローダートレイが乾燥していることを確認してください。

3M™分子検出チルブロックインサートの準備

3M 分子検出チルブロックインサートを作業台の上に直に置きます。3M 分子検出チルブロックトレイは使用しません。ブロックは検査室の室温 (20-25°C) で使用します。

3M™分子検出ヒートブロックインサートブロックインサートの準備

3M 分子検出ヒートブロックインサートをドライダブルブロックヒーターユニットに入れます。ドライブロックヒーターユニットをオンにして、温度を100 ± 1°Cに設定します。3M 分子検出ヒートブロックインサートブロックインサートが設定温度に達したら、温度を保持します。

注: 使用するヒーターユニットによっては、3M 分子検出ヒートブロックインサートブロックインサートが設定温度に達するまでに約30分かかります。適切な較正済みの温度計 (例: 浸線付温度計またはデジタル熱電対温度計。全浸没温度計は使用しないこと) を指定の部位に設置し、3M 分子検出ヒートブロックインサートが100 ± 1°Cであることを確認します。

3M™分子検出装置の準備

1. 3M™病原菌検出ソフトウェアを起動してログインします。お使いのソフトウェアが最新バージョンであるかどうかを確認するには、3M食品安全性部門の営業担当者までお問い合わせください。
2. 3M 分子検出装置の電源を入れます。
3. 各検体のデータを含む検出結果を作成または編集します。詳細については、3M™分子検出システムユーザーマニュアルを参照してください。

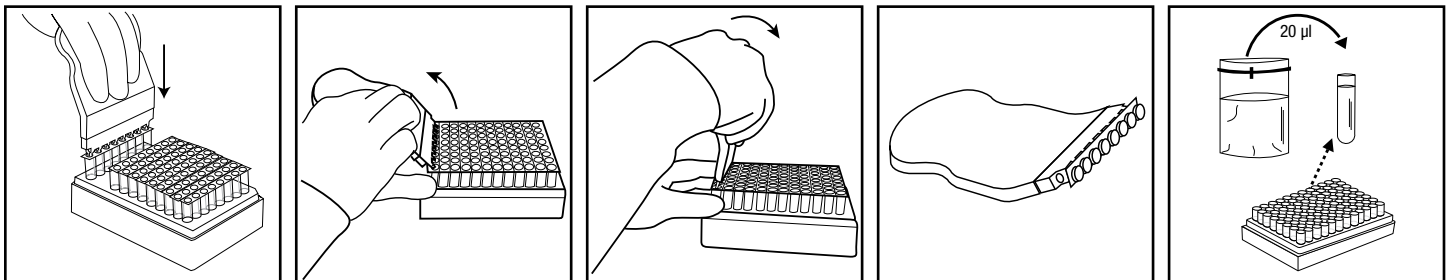
注:3M 分子検出装置は、反応チューブと共に3M 分子検出スピードローダートレイを入れる前に、60°C維持した状態になっている必要があります。この加熱ステップには約20分かかり、装置のステータスバーがオレンジ色に点灯します。装置の準備ができると、ステータスバーは緑色に変わります。

ライシス

1. 3Mライシスチューブは、ラックに一晚(16-18時間)静置して、室温(20-25°C)に戻します。3Mライシスチューブを室温に戻す別の方法としては、3Mライシスチューブを作業台の上に2時間以上静置するか、3Mライシスチューブを37±1°Cのインキュベータ内で1時間保温するか、3Mライシスチューブをドライダブルブロックヒーターに入れて100°Cで30秒間加熱します。
2. キャップを閉めた状態のライシスチューブを反転させて中の液を混合させます。4時間以内に次のステップに進みます。
3. 培養器から前増菌ブロスを取り出します。
4. 各検体および陰性コントロール (NC) 検体(滅菌前増菌培地)につき3Mライシスチューブ1本が必要です。
 - 4.1 3Mライシスチューブのストリップは、必要な3Mライシスチューブ数分にカットすることができます。各3Mライシスチューブまたは8連チューブのストリップの数を選択してください。3Mライシスチューブを空のラックに置きます。
 - 4.2 交差汚染を回避するため、3Mライシスチューブのキャップは一度に1ストリップずつ外し、滴下ステップごとに新しいピペットチップを使用してください。
 - 4.3 以下に記載のとおり、前増菌した検体を3Mライシスチューブに滴下します。

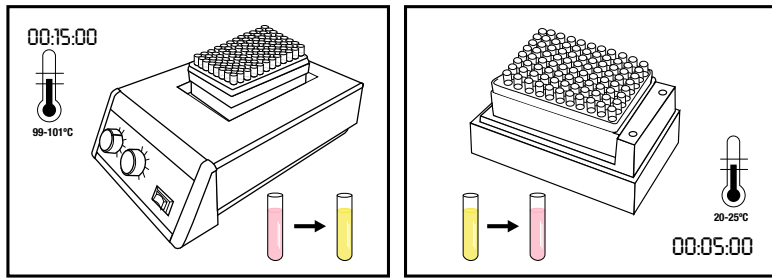
最初に、前増菌した各検体を各3Mライシスチューブに滴下します。最後にNCを滴下します。

- 4.4 3M™分子検出キャップ / デキャップツール - 溶解、3Mライシスチューブのキャップを一度に1ストリップずつ外します。
- 4.5 3Mライシスチューブのキャップを廃棄します。ライセートを再検査用に保存する場合は、キャップを清潔な容器に入れておき、ライシス後に再度キャップを嵌めます。
 - 4.5.1 保存したライセートの処理については、付録Aを参照してください。
- 4.6 プロトコルの表2.、3.、4.に別の指示がある場合を除き、検体20 µLを3Mライシスチューブに移注します。



5. 各検体が、ストリップの対応する3Mライシスチューブに添加されるまでステップ4.3を繰り返します。
6. 検査する検体数に応じて、ステップ4.1-4.6を繰り返します。
7. すべての検体を移注したら、NC(滅菌前増菌培地、例:BPW ISO) 20 µLを3Mライシスチューブに滴下します。水は陰性コントロールとして使用しないでください。
8. 3M 分子検出ヒートブロックインサートの温度が100±1°Cであることを確認してください。
9. 3M 分子検出ヒートブロックインサート内にカバーを外した3Mライシスチューブラックを入れて、15±1分間加熱します。加熱中、3Mライシス溶液はピンク色(低温)から黄色(高温)に変色します。
アッセイのライシスステップ中に適切な熱処理を行っていない検体は、潜在的バイオハザードとみなされる可能性がありますので、3M 分子検出装置には入れないでください。
10. ヒートブロックからカバーを外した3Mライシスチューブラックを取り出し、3M 分子検出チルブロックインサート内で5分間以上(最大10分間)冷却します。3M 分子検出チルブロックインサートレイを外して室温で使用された3M 分子検出チルブロックインサートは、作業台の上に直に置いてください。冷却されると、ライシス溶液はピンク色に戻ります。

11.3M 分子検出チルブロックインサートから3Mライシスチューブラックを取り出します。

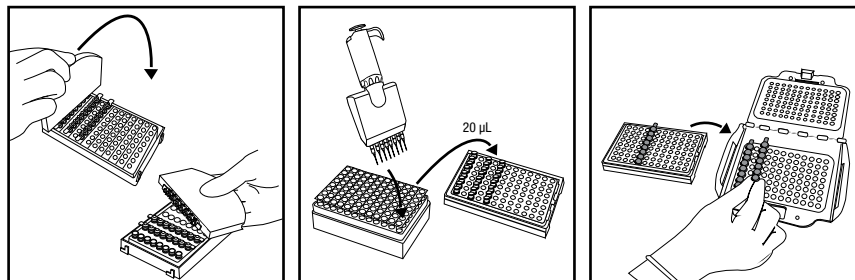


増幅

1. 各検体およびNCにつき3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブ1本が必要です。
 - 1.1 チューブのストリップは、必要な数に合わせてカットできます。各3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブまたは8連チューブのストリップの必要数を選択してください。
 - 1.2 3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブを空のラックに置きます。
 - 1.3 チューブの底の試薬ペレットを攪拌しないでください。
2. 3M試薬コントロールチューブを1本選択して、ラックに置きます。
3. 交差汚染を回避するため、3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブのキャップは一度に1ストリップずつ外し、移注ステップごとに新しいピペットチップを使用してください。
4. 下記のように、各ライセートを、3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブおよび3M試薬コントロールチューブに滴下してください。

3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) の各試薬チューブに**まず**各検体ライセートを滴下し、次にNCを滴下します。**最後に**3M試薬コントロールチューブを水和します。

5. 3M™分子検出キャップ / デキャップツール - 試薬用を使用して、3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブのキャップを一度に1ストリップずつ外します。キャップを廃棄します。
 - 5.1 **検液20 μLを3Mライシスチューブの液体の上部½ (沈澱物は避けてください) から取り、対応する3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブに分注します。ペレットが攪拌されないよう、一定の角度で分注します。ピペット操作で5回で静かに混合します。**
 - 5.2 個々の検体ライセートをストリップ内の対応する3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブに添加するまで、ステップ5.1を繰り返します。
 - 5.3 3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブに同梱の予備キャップで蓋をし、3M 分子検出キャップ / デキャップツール - 試薬用の丸い側を使用して前後に圧をかけ、キャップがしっかりと締めます。
 - 5.4 テストする検体数について、ステップ5.1-5.3を繰り返します。
 - 5.5 すべての検体ライシス溶液を滴下したら、ステップ5.1-5.3を繰り返してNCライシス溶液20 μLを3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブに滴下します。
 - 5.6 **3M試薬コントロールチューブにNCライセート20 μLを滴下します。ペレットが攪拌されないよう、一定の角度で分注します。ピペット操作で5回で静かに混合します。**
6. 清潔な、殺菌済み3M 分子検出スピードローダートレイにキャップをしたチューブを装填します。その後蓋を閉めて、留め金をかけます。



7. 3M病原菌検出用ソフトウェアで設定した検査内容を確認します。
8. ソフトウェアのスタートボタンをクリックして、使用する装置を選択します。選択された装置の蓋が自動的に開きます。
9. 3M 分子検出装置に3M 分子検出スピードローダートレイを置き、蓋を閉めてアッセイをスタートします。結果は60分ほどで判定されますが、陽性の場合はいくらか早く検出されます。

10. アッセイ終了後、3M 分子検出スピードローダートレイを3M 分子検出装置から取り出し、チューブを水で1-5% (v/v) に希釈した家庭用漂白液に1時間浸漬した後、アッセイの準備作業領域から隔離して、廃棄してください。

注記: 交差汚染による偽陽性の危険を最小限に抑えるため、増幅DNAの入った試薬チューブは絶対に開けないでください。これには、3M試薬コントロール、3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 試薬チューブ、3M基質コントロールチューブが含まれます。汚染されたチューブは、常に、水で1-5% (v/v) に希釈した家庭用漂白液に1時間浸漬した後、アッセイの準備作業領域から隔離して、廃棄してください。

結果と解釈

アルゴリズムが核酸増幅の結果より得られた光出力曲線を解釈します。結果はソフトウェアが自動的に解析し、結果に応じて色分けされます。陽性または陰性の結果は、それぞれが持つ固有の曲線パラメータを解析することにより特定されます。結果が陽性と推定される場合はリアルタイムでレポートされますが、陰性およびInspect (検証が必要な結果) の場合は、その検査が完了した後に表示されます。

陽性と推定される検体は、検査室の標準作業手順書、または適切な参照法^(1,2,3)に従って確認する必要があります。まず、一次BPW ISO前増菌物を二次前増菌プラスに移し、プレート接種したのち、適切な生化学的、血清学的手法を使用して単離菌を確認してください。

注: ステムおよび3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 増幅試薬が「バックグラウンド」相対発光量 (RLU) を示すことから、陰性検体でも読取り値がゼロになりません。

異常な光出力がみられるなどの稀なケースについては、アルゴリズムがこれを「再検査してください」と表示します。3M社はお客様に、「再検査」検体に対して検査を再度行うことを推奨します。その結果が続けて再検査であった場合は、任意の別の方法または行政の規制によって指定されたとおりに確認検査を行ってください。

結果が一致しない場合 (3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) 用で陽性と推定されたものの、血清抗体検査では確認できなかった場合) は、検査室の必要な手順に従って、得られた結果の有効性を確認してください。

NF VALIDATIONにより認証された方法に基づく結果の確認

NF VALIDATIONに照らして3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) により陽性と特定される検体はすべて、以下の検査のうちの一つにより確認する必要があります。

オプション1: 緩衝ペプトン水⁽³⁾前増菌から始めるISO 16654⁽³⁾標準を使用する。

オプション2: 以下で構成される確認方法を実施する。50 μLの緩衝ペプトン水⁽³⁾をCefixime Potassium Tellurite Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾寒天培地に塗抹する。37°Cで24±3時間培養する。特徴的なコロニーを栄養寒天培地に塗抹し、単離したコロニー上で直接、ラテックス凝集検査を実施する。3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) の結果が確認されない場合には、免疫磁気分離法を実施して、CT-SMAC上に50 μLを塗抹する。

オプション3: EN ISO 7218⁽⁹⁾標準に記載されている通り、核酸プローブを使用して、CT-SMACからの単離コロニー (精製済みまたは精製されていない) に対して検査を実施する (オプション1または2を参照)。核酸プローブは、3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) で使用したのものとは異なるものを使用する。

オプション4: 原理が3M病原菌検出アッセイ2 - *E. coli* O157 (H7含む) とは異なる、NF VALIDATIONで認証済みのその他方法を使用する。この第二のバリデーション済みの方法について記述されている完全なプロトコルを必ず使用すること。確認開始に先立つステップはすべて、両方の方法に共通している必要があります。

結果が一致しない場合 (一方の方法で陽性と推定されたものの、他方の方法で確認されない場合)、検査室の必要な手順に従って、得られた結果の有効性を確認してください。

具体的な用途や手順についてご質問がありましたら、当社のウェブサイト (www.3M.com/foodsafety) をご覧いただくか、3M販売担当者または取り扱い販売店までお問い合わせください。

付録A. プロトコルの中断: 検体の保管と再検査

1. 加熱処理済みライセートを保管するには、ライシスチューブに清潔なキャップを嵌めます (ライシスセクション、4.5を参照)。
2. 前増菌した検体を保管するには、保管前に最低18時間培養してください。
3. 4-8°Cで最大72時間保管します。
4. 保管された検体を2-3回反転させて混合し、増幅用として準備します。
5. チューブのキャップを外します。
6. 混合したライシスチューブを3M 分子検出ヒートブロックインサートに置き、100±1°Cで5±1分間加熱します。
7. ヒートブロックから3Mライシスチューブラックを取外し、3M 分子検出チルブロックインサート内で5分間以上 (最大10分間) 冷却します。
8. 上記の「増幅」セクションに詳述されているプロトコルを継続します。

参考文献:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654: 2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

記号の説明

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2

产品说明及预期用途

3M™ 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2 与 3M™ 分子检测系统一起使用,用于快速、专门检测增菌后的食品和饲料样品中的大肠杆菌 O157(包括 H7)。

3M 分子检测分析采用环介导等温扩增技术来快速扩增具有高特异性和高敏感性的核酸序列,结合使用生物发光特性来检测扩增反应。将实时报告假定阳性结果,阴性结果则在分析完成后显示。应使用您喜欢的方法或按照当地法规指定的方法确认假定阳性结果^(1,2,3)。

3M 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2 专供受过实验室技术培训的专业人员在实验室环境下使用。对于在食品或饮料以外的行业中使用此产品,3M 尚未有资料可证。例如,对于将此产品用于检测环境、制药、化妆品、临床或家畜样品,3M 尚未有资料可证。尚未针对所有可能的食品产品、食品加工、检测方案或针对所有可能的细菌类型评估 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2。

正如所有检测方法一样,增菌培养基的来源、配方和质量都可能会影响结果。取样方法、检测方案、样品制备、处理和实验室技术等因素都可能会影响结果。3M 建议在用户环境中利用充足数量的样品以及特定的食品和微生物激发试验对包括增菌培养基在内的方法进行评估,确保相应的方法符合用户的标准。

3M 已通过缓冲蛋白胨水 ISO 对 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2 进行了评估。

3M™ 分子检测仪器专用于在分析裂解步骤中经过热处理的样品,该步骤旨在破坏样品中存在的微生物。未在分析裂解步骤中经过适当热处理的样品可能会被视为具有潜在生物危害性,不应将其插入 3M 分子检测仪器。

3M Food Safety 产品的设计和生已经获得 ISO(国际标准化组织)9001 认证。

3M 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2 检测试剂盒包含 96 个检测反应管,如表 1 所述。

表 1. 3M 分子检测试剂盒构成

项目	标识	数量	内容物	备注
3M™ 裂解溶液 (LS)	透明管, 粉红溶液	96 (12 排, 每排 8 管)	每管 580 μL 3M 裂解溶液	已上架, 即开即用
3M™ 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2 试剂反应管	粉色试管	96 (12 排, 每排 8 管)	特定扩增和检测试剂的冻干样	即开即用
附加盖	粉色管盖	96 (12 排, 每排 8 个盖)		即开即用
3M™ 试剂对照 (RC)	透明翻盖管	16 (2 袋, 每袋 8 管)	DNA、扩增和检测试剂的冻干对照品	即开即用
快速入门指南		1		

阴性对照采用的是无菌增菌培养基(如 BPW ISO),未在检测试剂盒中提供。请勿将水用作阴性对照。

安全

用户应该阅读、理解并遵守 3M 分子检测系统和 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2 说明中的所有安全信息。妥善保存安全说明书,以备日后查阅。

警告: 表示危险情况,如果不注意避免,可能造成死亡或严重的人身伤害和/或财产损失。

注意: 表示潜在的危险情况,如果不注意避免,可能导致财产损失。

警告

请勿在人类或动物的各种诊断中使用 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2。

用户必须就当前适用的检测技术对其人员进行培训,例如:优良实验室规范、ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ 或 ISO 7218⁽⁵⁾。

为了降低与假阴性结果相关的风险,避免释放出受污染产品,请注意以下事项:

- 遵守操作流程并按照产品信息中提供的方法执行检测。
- 使用预热至 41.5 ± 1°C 的培养基。样品制备过程中,请勿让培养基低于培养温度范围。
- 请按照包装和产品信息中的指示储存 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2。
- 始终在过期日期之前使用 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2。
- 将 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2 用于经内部或第三方验证的食品、饲料和食品加工环境样品。
- 仅将 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7)分子检测分析 2 用于经内部或第三方验证的表面、消毒剂、方案和菌株。
- 对于含有中和缓冲液(NB)和芳基磺酸酯复合物的环境样品,应在检测前按 1:2 的比例进行稀释(1 份样品对 1 份无菌增菌肉汤)。另一种选择是将 10 μL 的中和缓冲液培养液转移至 3M 裂解溶液管内。含有 3M™ 中和缓冲液和芳基磺酸酯复合物的 3M™ 采样产品包括: BPPFV10NB、RS96010NB、RS9604NB、SSL10NB、XSLSSL10NB、HS10NB 和 HS119510NB。

为了降低与化学品和生物危害暴露相关的风险,请注意以下事项:

- 在训练有素的工作人员的控制下,于妥善配备的实验室中执行致病菌检测。增菌培养基以及接触过增菌培养基的设备或表面可能含有致病菌,足以对人体健康造成风险。
- 始终遵守标准实验室安全规范,包括在处理试剂和受污染样品时穿戴适当的防护服和护眼装置。
- 避免接触增菌培养基和扩增后试剂反应管的内容物。
- 根据当地/地区/国家/行业的现行标准对增菌后的样品和相关的受污染废弃物进行废弃处理。
- 不要超出建议的加热器温度设置。
- 不要超出建议的加热时间。
- 使用正确的经过校准的温度计检验 3M™ 分子检测加热模块的温度(例如,局浸温度计或热电偶数字温度计,而非全浸温度计)。温度计必须放置于 3M 分子检测加热模块中的指定位置。

为了在准备分析时降低与交叉污染相关的风险,请注意以下事项:

- 始终戴手套(保护用户和防止引入核酸酶)。

为了降低与高温液体暴露相关的风险,请注意以下事项:

- 不要超出建议的加热器温度设置。
- 不要超出建议的加热时间。
- 使用正确的经过校准的温度计检验 3M™ 分子检测加热模块的温度(例如,局浸温度计或热电偶数字温度计,而非全浸温度计)。温度计必须放置于 3M 分子检测加热模块中的指定位置。

注意

为了在准备分析时降低与交叉污染相关的风险,请注意以下事项:

- 建议使用无菌的、带气溶胶屏障(带滤芯)的分子生物级移液管吸头。
- 每次转移样品时使用新的吸头。
- 将样品从培养基转移至裂解管时遵循实验室良好操作规范。为了避免移液管污染,用户可以选择增加一个中间转移步骤。例如,用户可以将每个经过增菌的样品转移至无菌管中。
- 使用配有杀菌灯分子生物工作站(如可行)。

为了降低与假阳性结果相关的风险,请注意以下事项:

- 扩增后切勿打开试管。
- 处理受污染的试管时,应首先将其放在浓度为 1-5%(与水的体积比)的家用漂白溶液中浸泡 1 个小时,且始终远离分析准备区。

请参考“安全数据表”了解其它信息和当地的弃置法规。

如果您对于特定的应用或程序存有疑问,请访问我们的网站 www.3M.com/foodsafety,也可与您当地的 3M 代表或经销商联系以获得帮助。

用户责任

用户有责任熟悉产品信息和说明。请访问我们的网站 www.3M.com/foodsafety 或联系您当地的 3M 代表或经销商,以了解更多信息。

选择检测方法时,务必认识到各种外部因素(如取样方法、检测方案、样品制备、处理和实验室技术)都可能影响结果。

用户在选择检测方法或产品时,应自行负责选用合适的基质和微生物激发试验对足够多的样品进行评估,以确保所选择的检测方法达到用户的标准。

检测方法及其结果能否满足客户及供应商的要求也由用户负责。

同所有检测方法一样,使用任何 3M Food Safety 产品所得到的结果并不能保证受检基质或程序的质量。

为帮助客户评估各种食品基质方法, 3M 开发了 3M™ 分子检测基质对照试剂盒。需要时, 可以使用基质对照 (MC) 来确定基质是否会影响 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 的结果。在采用 3M 方法或在检测新的或未知基质或者原材料或工艺发生变更的基质的任何验证期间, 对若干典型的基质样品进行检测, 即通过不同来源获取的样品。

基质可定义为一种具备内源特性的产品 (如化学成分或工艺)。基质间的差异是因加工或外观的不同而导致的差异, 例如原样和经过巴氏消毒处理之间的差异以及新鲜和干燥之间的差异。

有限保证/有限补救措施

除非各个产品包装的有限保证部分明确声明, 否则, 3M 将不提供任何明示或默示保证, 包括但不限于适销性或特定用途适用性保证。如果证明任何 3M Food Safety 产品存在缺陷, 3M 或其授权经销商可以自行决定是提供换货, 还是对产品进行退款。这是向您提供的唯一补救方案。您必须在发现产品存在任何可疑缺陷的 60 天内立即通知 3M, 并将该产品退还给 3M。请致电客户服务部门 (美国 1-800-328-1671) 或联系您的 3M Food Safety 官方代表以获得退货授权。

3M 责任限制

对于任何损失或损害, 无论是直接、间接、特殊、偶然或非直接原因造成的损害, 3M 概不承担任何责任, 包括但不限于利润损失。根据法律理论, 3M 对所谓存在缺陷的产品的赔付不会超过产品的购买价格。

储存和弃置

请将 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 储存在 2-8°C 环境下。请勿冷冻。避光储存试剂盒。打开试剂盒后, 应检查铝箔袋是否破损。如果铝箔袋破损, 请勿使用。打开之后, 未使用的试剂反应管应始终储存在内部带有干燥剂的可重新密封铝箔袋中, 以保持冻干试剂的稳定性。将重新密封的铝箔袋储存在 2-8°C 温度下, 但储存时间不能超过 60 天。

请勿使用过期的 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2。过期日期和批号注明在包装箱外侧的标签上。使用之后, 增菌培养基和 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试管可能含有致病物质。完成检测后, 应遵照现行的行业标准弃置受污染的废弃物。请参考“安全数据表”了解其它信息和当地的弃置法规。

使用说明

请仔细阅读所有说明。否则, 可能会导致结果不准确。

用户应当遵照“针对 3M 分子检测系统的安装合格 (IQ)/操作合格 (OQ) 方案和说明”文档⁽⁷⁾中的规定接受 3M 分子检测系统操作员资格验证培训。

使用 1-5% (与水的体积比) 家用漂白溶液或 DNA 去除溶液定期净化实验室工作台和设备 (移液管、开盖器等)。

请参见“验证方法具体说明”部分, 了解特定要求:

表 3: 遵照 AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01 实施的培养方案

表 4: 遵照 NF Validation 证书 3M 01/18-05/17 实施的培养方案

样品培养

表 2、表 3 或表 4 提供了针对食品的一般培养方案指导。用户有责任验证备用取样方案或者稀释率, 以确保本检测方法符合用户的标准。

食品

1. 将 BPW ISO 增菌培养基预热到 41.5 ± 1°C。
2. 根据表 2、表 3 或表 4, 在无菌条件下混合增菌培养基和样品。对于所有肉类和微粒样品, 建议使用过滤袋。
3. 通过混合、均质操作或手动混合 2 ± 0.2 分钟, 使所有基质均质化 (叶菜类农产品和水果除外)。根据表 2、表 3 或表 4, 在 41.5 ± 1°C 温度下培养适当的时间。

表 2. 通用培养方案

样品基质 ^(a)	样品大小	增菌肉汤量 (mL)	培养温度 (±1°C)	培养时间 (小时)
生牛肉, 包括碎肉/肉末和切掉下的肉	325 g	975 BPW ISO (预热)	41.5	10-18
生肉, 包括生牛肉、猪肉、家禽肉、羔羊肉和野牛肉	25 g	225 BPW ISO (预热)	41.5	8-18
叶菜类农产品 ^(b)	200 g	450 BPW ISO (预热)	41.5	18-24

其他食品, 包括水果 ^(b) 、蔬菜、水果/蔬菜汁、新鲜草本植物、生海鲜、生鸡蛋、生牛奶、饼干面团和加工肉类	25 g	225 BPW ISO (预热)	41.5	18-24
核桃或含有核桃的坚果食品 (该方案适用于其他坚果, 包括山核桃、杏仁、开心果、腰果和栗子)	25 g	225 复原脱脂奶粉	41.5	18-24

(a) 冷冻的样品应平衡至 4-8°C, 然后再添加到增菌肉汤中。

(b) 如果是叶菜类农产品和水果样品, 应该用手轻轻搅动 5 分钟。请勿进行混合或均质操作。

验证方法具体说明

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

在 AOAC Official Method of AnalysisSM 计划中, 经发现, 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 是检测大肠杆菌 O157:H7 的有效方法。研究中检测的基质显示在表 3 中。

表 3. 根据 AOAC® Official MethodsSM 2017.01 在 41.5 ± 1°C 环境下使用预热的 BPW ISO 的增菌方案

样品基质	样品大小	增菌肉汤量 (mL)	培养时间 (小时)	均质
生的碎牛肉 (73% 瘦肉)	325 g	975	10-18	手动方式, 用手或进行均质操作
袋装生菠菜 ^(a)	200 g	450	18-24	用手轻轻搅动 5 分钟, 切勿均质
新鲜豆芽	25 g	225	18-24	用手轻轻搅动 5 分钟, 切勿均质
冷冻的蓝莓 ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	用手轻轻搅动 5 分钟, 切勿均质

(a) 如果是叶菜类农产品和水果样品, 应该用手轻轻搅动 5 分钟。请勿进行混合或均质操作。

(b) 冷冻的样品应平衡至 4-8°C, 然后再添加到增菌肉汤中。

AFNOR Certification 认证的 NF Validation



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

有关有效性截止日期的详细信息, 请参阅上述网站中提供的 NF VALIDATION 证书。

NF VALIDATION 认证方法遵循 ISO 16140-2⁽⁸⁾ (与 ISO 16654 相比⁽³⁾)

验证范围: 生牛肉、生奶制品、生水果和蔬菜

样品制备: 遵照 EN ISO 16654 和 EN ISO 6887⁽⁶⁾ 制备样品

软件版本: 参见证书

表 4. 根据 NF VALIDATION 认证方法 3M 01/18-05/17 在 41.5 ± 1°C 环境下使用预热的 BPW ISO 的增菌方案

方案	样品大小	增菌肉汤量 (mL)	培养温度 (±1°C)	培养时间 (小时)
生奶制品、生水果和生蔬菜	25 g	225	41.5	18-24
生牛肉	25 g	225	41.5	8-24

注释:

- 多于 25 g 的样品尚未在 NF VALIDATION 研究中进行检测。
- 推荐的方案中断点为增菌后或样品裂解后。增菌肉汤或样品裂解液可在 2-8°C 下储存最长 72 小时。从储存处取出增菌肉汤后,应从裂解部分的步骤 1 重新开始检测。从储存处取出样品裂解液后,应从裂解部分的步骤 7 重新开始检测。裂解液还可以存放在 -20°C 的环境下。
- 短时增菌方案对培养条件非常敏感,必须遵循方案中指定的温度。应该确认用于预热肉汤的水浴锅或培养设备的温度,以确保增菌肉汤达到所需的温度。样品制备的总时间不得超过 45 分钟,其中包括培养基预热步骤结束和食品样品培养开始之间的延迟。培养期间,建议使用通风良好的培养设备。

3M™ 分子检测快速转移托盘的准备工作

1. 将一块干布或一次性纸巾用 1-5% (与水的体积比) 家用漂白溶液浸湿,用来擦拭 3M 分子检测快速转移托盘。
2. 用清水清洗 3M 分子检测快速转移托盘。
3. 使用一次性纸巾擦干 3M 分子检测快速转移托盘。
4. 使用前确保 3M 分子检测快速转移托盘保持干燥。

3M™ 分子检测冷却架的准备工作

将 3M 分子检测冷却架直接置于实验室工作台上:无需使用 3M 分子检测冷却模块托盘。在实验室环境温度 (20-25°C) 下使用模块。

3M™ 分子检测加热模块的准备工作

将 3M 分子检测加热模块放入双干燥块加热器中。开启干燥块加热装置并设定温度,使 3M 分子检测加热模块达到并保持 100 ± 1°C。

注释:根据不同的加热器,允许 3M 分子检测加热模块在大约 30 分钟后达到工作温度。使用放在指定位置的、正确的、经过校准的温度计(如局浸温度计或热电偶数字温度计,而非全浸温度计)检验 3M 分子检测加热模块的温度是否达到 100 ± 1°C。

3M™ 分子检测仪器的准备工作

1. 启动 3M™ 分子检测软件并登录。请联系您的 3M Food Safety 代表,确保您使用的是最新版的软件。
2. 打开 3M 分子检测仪器。
3. 利用每个样品的数据为其创建或编辑一次运行检测。请参考“3M™ 分子检测系统用户手册”了解详细信息。

注释:插入带反应管的 3M 分子检测快速转移托盘前,3M 分子检测仪器必须达到并保持 60°C 的温度。此加热步骤大概需要 20 分钟,由仪器状态栏中的一个橙色灯进行指示。当仪器准备好启动检测时,状态栏将变为绿色。

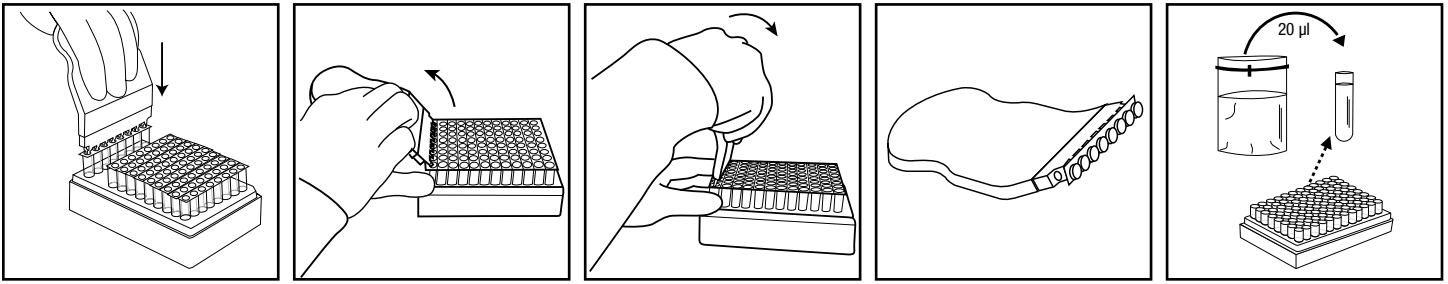
裂解

1. 将管架置于室温 (20-25°C) 环境下一整夜 (16-18 小时),让 3M 裂解溶液管预热。使 3M 裂解溶液管平衡到室温的另一种方法是将 3M 裂解溶液管放在实验室工作台上至少 2 小时、在 37 ± 1°C 培养设备中培养 3M 裂解溶液管 1 小时,或将其置于双干燥块加热器中在 100°C 下持续加热 30 秒。
2. 倒置封盖的裂解溶液管,使其混合均匀。在 4 小时内继续执行下一步。
3. 从培养设备中取出增菌肉汤。
4. 每个样品和每个阴性对照 (NC) 样品 (无菌增菌培养基) 都需要一支 3M 裂解溶液管。
 - 4.1 可以根据所需的 3M 裂解溶液管的数量,对 3M 裂解溶液联排管进行切割。选择所需数量的单个 3M 裂解溶液管或 8 联排管。将 3M 裂解溶液管放入空管架中。
 - 4.2 为了避免交叉污染,请一次仅打开一排 3M 裂解溶液管的管盖,并且每次转移溶液时使用新的移液管吸头。
 - 4.3 按如下所述将经过增菌的样品转移到 3M 裂解溶液管:

首先将每个经过增菌的样品转移到单个 3M 裂解溶液管中。**最后**转移 NC。

- 4.4 使用 3M™ 分子检测开盖器 - Lysis 打开 3M 裂解溶液联排管的管盖,一次仅打开一排。
- 4.5 丢弃 3M 裂解溶液管的管盖 - 如果要保留裂解液以重新检测,请将管盖放入干净的容器中,以备裂解后重新使用。
 - 4.5.1 如需处理保留的裂解液,请参阅附录 A。

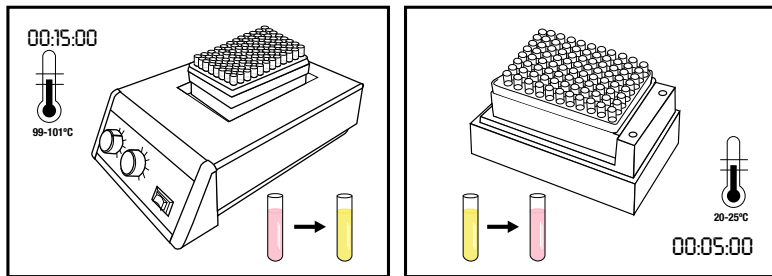
4.6 将 20 μ L 样品转移到 3M 裂解溶液管内, 除非方案表 2、3 和 4 中另有说明。



5. 重复步骤 4.3, 直到将所有样品添加到联排管对应的 3M 裂解溶液管为止。
6. 根据需要对待检测的样品重复步骤 4.1 到 4.6。
7. 当转移完所有样品后, 将 20 μ L 的 NC (无菌增菌培养基, 如 BPW ISO) 转移到一支 3M 裂解溶液管中。请勿将水用作 NC。
8. 检验 3M 分子检测加热模块的温度是否达到了 $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 。
9. 将未加盖的 3M 裂解溶液管架放入 3M 分子检测加热模块中加热 15 ± 1 分钟。加热期间, 3M 裂解溶液将从粉红色 (冷) 变为黄色 (热)。

未在分析裂解步骤中经过适当热处理的样品可能会被视为具有潜在生物危害性, 不应将其插入 3M 分子检测仪器。

10. 从加热模块中取出未加盖的 3M 裂解溶液管架, 将其放入 3M 分子检测冷却架中冷却至少 5 分钟, 最长 10 分钟。如果 3M 分子检测冷却架在环境温度下不与 3M 分子检测冷却模块托盘配套使用, 则应将其直接置于实验室工作台上。冷却后, 裂解溶液将恢复为粉红色。
11. 从 3M 分子检测冷却架上移除 3M 裂解溶液管架。



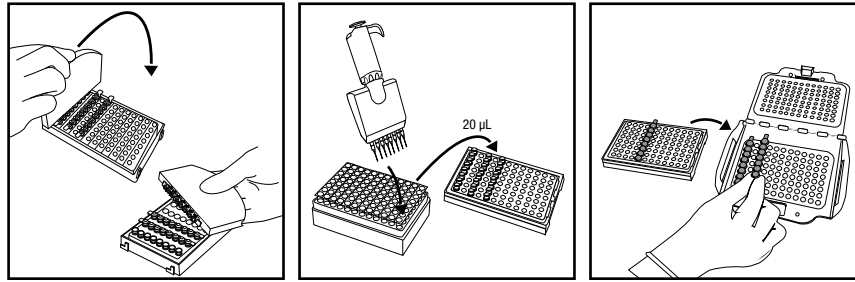
扩增

1. 每个样品和每个 NC 都需要一支 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管。
 - 1.1 根据所需的试管数, 对联排管进行切割。选择所需数量的单个 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管或 8 联排管。
 - 1.2 将 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管放入空管架中。
 - 1.3 请勿将试剂小球搅离管底。
2. 选择一支 3M 试剂对照管并放入管架。
3. 为了避免交叉污染, 请一次仅打开一排 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管的管盖, 并且每次转移溶液时使用新的移液管吸头。
4. 按如下所述将相应的裂解液分别转移到 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管和 3M 试剂对照管:

首先将各个样品裂解液转移到单个 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管, 然后再转移 NC。**最后**对 3M 试剂对照管进行水合。

5. 使用 3M™ 分子检测开盖器 - Reagent 打开 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管的管盖, 一次仅打开一排。丢弃管盖。
 - 5.1 将 3M 裂解溶液管液体上部 $\frac{1}{2}$ 层的 20 μ L 样品裂解液 (避免沉淀) 转移到对应的 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管。成角度注入, 以避免搅动小球。轻轻地上下吸动 5 次, 以充分混合。
 - 5.2 重复步骤 5.1, 直到将所有样品裂解液添加到联排管对应的 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管为止。
 - 5.3 使用提供的附加盖盖住 3M 大肠杆菌 O157 (包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管并使用 3M 分子检测开盖器 - Reagent 较圆的一侧以前后移动的方式加压, 以确保将盖子盖紧。

- 5.4 根据需要对待检测的样品重复步骤 5.1 到 5.3。
 - 5.5 当转移完所有样品裂解液后,重复步骤 5.1 到 5.3 以将 20 μL NC 裂解液转移到 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管。
 - 5.6 将 20 μL NC 裂解液转移至 3M 试剂对照管。成角度注入,以避免搅动小球。轻轻地上下吸动 5 次,以充分混合。
6. 将加盖的试管放入干净且经过净化处理的 3M 分子检测快速转移托盘中。然后合上并锁定盖子。



7. 在 3M 分子检测软件中查看和确认配置的检测。
8. 在软件中单击“启动”按钮并选择要使用的仪器。所选仪器的盖会自动打开。
9. 将 3M 分子检测快速转移托盘放入 3M 分子检测仪器并合上盖子,以启动分析。结果将在 60 分钟内提供,但阳性结果可以更快检测到。
10. 分析完成后,从 3M 分子检测仪器中取出 3M 分子检测快速转移托盘,通过将试管浸入 1-5% (与水的体积比) 家用漂白溶液 1 小时并使其远离分析准备区,对试管进行废弃处理。

注意: 为了将因为交叉污染而导致的假阳性结果风险降至最低,请勿打开包含扩增的 DNA 的试剂反应管。这包括 3M 试剂对照、3M 大肠杆菌 O157(包括 H7) 分子检测分析 2 试剂反应管和 3M 基质对照管。对密封的试剂反应管进行废弃处理时,应始终将其放入浓度为 1-5% (与水的体积比) 的家用漂白溶液中浸泡 1 小时,并确保其远离分析准备区。

结果和说明

软件会使用一种算法对来自核酸扩增检测的光输出曲线进行解读。软件会自动分析结果并根据不同结果用不同颜色进行标记。通过分析一系列独一无二的曲线参数可以确定阳性结果或阴性结果。将实时报告假定阳性结果,阴性结果和检查结果则在检测完成后显示。

假定阳性样品应当遵循实验室标准操作规程或正确的参考方法进行确认^(1,2,3),应首先将初步的 BPW ISO 增菌培养液转移到二次增菌肉汤,然后进行后续的培养,并利用正确的生化和血清学方法对分离菌进行确认。

注释: 因为系统和 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7) 分子检测分析 2 扩增试剂带有“背景”相对光单位 (RLU) 读数,即使阴性样品也不会出现读数为零的情况。

在极少数情况下,当存在异常光输出时,算法会显示“检查”标记。3M 建议用户对所有“检查”样品重新进行分析。如果结果仍为“检查”,请使用您喜欢的方法或按照当地法规指定的方法进行确认试验。

如果出现结果不一致(采用 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7) 分子检测分析 2 的结果为假定阳性,且并未通过上述其中一种方法予以确认,尤其是乳胶凝集试验),则实验室必须执行必要的步骤来确保所获得结果的有效性。

依照 NF VALIDATION 认证方法确认结果

在 NF VALIDATION 背景下,必须通过以下其中一种检测对 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7) 分子检测分析 2 鉴定的所有阳性样品进行确认:

选项 1: 采用 ISO 16654⁽³⁾ 标准,从缓冲蛋白胨水⁽³⁾ 增菌液开始。

选项 2: 实施包含以下内容的确认方法:将 50 μL 缓冲蛋白胨水⁽³⁾ 增菌液加入含头孢克肟亚硫酸钾山梨醇麦康凯 (CT-SMAC)⁽³⁾ 琼脂平板。在 37°C 条件下培养 24 \pm 3 小时。以划线法将具有典型特征的菌落接种到营养琼脂,并直接对隔离的菌落执行乳胶凝集试验。如果未确认 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7) 分子检测分析 2 的结果,则执行免疫磁珠分离步骤,然后将 50 μL 划线接种到 CT-SMAC。

选项 3: 按照 EN ISO 7218⁽⁵⁾ 标准所述,使用核酸探针对 CT-SMAC 中的隔离菌落(纯化或未纯化)执行操作(请参阅选项 1 或 2)。核酸探针必须与 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7) 分子检测分析 2 中使用的核酸探针不同。

选项 4: 可以使用任何其他 NF VALIDATION 认证方法,原理必须与 3M 大肠杆菌 O157(包括 H7) 分子检测分析 2 不同。在执行第二个验证方法时,必须遵循所述的完整方案。两个方法在开始确认前的所有步骤必须是相同的。

如果出现结果不一致(替代方法的结果为假定阳性,且并未通过上述其中一种方法予以确认),则实验室必须执行必要的步骤来确保所获得结果的有效性。

如果您对于特定的应用或程序存有疑问,请访问我们的网站 www.3M.com/foodsafety,也可与您当地的 3M 代表或经销商联系以获得帮助。

附录 A. 方案中断: 储存和重新检测样品

1. 如需储存热处理后的裂解液, 应使用干净的盖子为裂解液管重新盖上盖子 (请参阅 4.5“裂解”部分)
2. 如要储存增菌的样品, 应在储存前至少培养 18 小时。
3. 在 4 - 8°C 温度下最多储存 72 小时。
4. 取出储存的样品以准备用于扩增, 将其倒置 2-3 次进行混合。
5. 打开管盖。
6. 将混合后的裂解液管置于 3M 分子检测加热模块中并在 100 ± 1°C 温度下加热 5 ± 1 分钟。
7. 从加热模块中取出 3M 裂解溶液管架, 将其放入 3M 分子检测冷却架中冷却至少 5 分钟, 最长 10 分钟。
8. 继续执行上文详述的“扩增”部分的方案。

参考资料:

1. 美国食品药品监督管理局微生物分析手册。第 4A 章: 致泻性大肠杆菌。2015 年 11 月。
2. 美国农业部 (USDA) FSIS 微生物实验室指南 5.09。肉制品、胴体和环境海绵中大肠杆菌 O157:H7 的检测、分离和鉴别。生效日期: 2015 年 1 月 15 日。
3. ISO 16654:2001 食品和动物饲料微生物 - 检测大肠杆菌 O157 的水平方法。
4. ISO/IEC 17025。用于检验和校准实验室能力的一般要求。
5. ISO 7218。食品和动物饲料微生物 - 微生物检验用一般规则。
6. ISO 6887。食品和动物饲料微生物 - 用于微生物检验的检测样品、初始混悬液和十进制稀释液的制备。
7. 3M™ 分子检测系统的安装合格 (IQ)/操作合格 (OQ)。3M Food Safety。

符号说明

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

คำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์

ชุดทดสอบเชื้อ - ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2

รายละเอียดผลิตภัณฑ์และวัตถุประสงค์การใช้งาน

ชุดทดสอบเชื้อ - ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M™ จะนำมาใช้กับระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™ สำหรับการตรวจหาเชื้อฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) อย่างรวดเร็วและเฉพาะเจาะจงในตัวอย่างอาหารหลังเพิ่มจำนวนเชื้อและตัวอย่างอาหาร

ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ใช้การเพิ่มขยายยีนแบบลูปที่อุณหภูมิเดียว (Loop-mediated isothermal amplification) เพื่อเพิ่มลำดับกรดนิวคลีอิกด้วยวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงและความไวสูงผสมผสานกับการเรืองแสงทางชีวภาพเพื่อตรวจจับการเพิ่มขยายจำนวน ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกจะได้รับการรายงานในทันที ขณะที่ผลการทดสอบที่เป็นลบจะแสดงผลภายหลังจากที่การทดสอบดังกล่าวเสร็จสมบูรณ์แล้ว ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกควรได้รับการยืนยันโดยใช้วิธีการที่ท่านเห็นสมควรหรือตามที่ระบุไว้ในระเบียบข้อบังคับต่าง ๆ ในท้องถิ่น ^(1, 2, 3)

ชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ออกแบบมาให้ใช้ในสภาพแวดล้อมห้องปฏิบัติการโดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ผ่านการอบรมเทคนิคการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ 3M ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์นี้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ นอกจากอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องดื่ม ตัวอย่างเช่น 3M ยังไม่ได้ออกเอกสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้สำหรับการทดสอบตัวอย่างด้านสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างเกี่ยวกับสัตว์ ชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ยังไม่ได้รับการประเมินกับผลิตภัณฑ์อาหาร การแปรรูปอาหาร ระเบียบการทดสอบที่เป็นไปได้ทั้งหมดหรือกับสายพันธุ์แบคทีเรียที่เป็นไปได้ทั้งหมด

แหล่งที่มา สูตร และคุณภาพของอาหารสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อสามารถส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบที่ได้เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่นๆ นอกจากนี้ ปัจจัยต่างๆ เช่น วิธีการสุ่มเก็บตัวอย่าง ระเบียบการทดสอบ การเตรียมตัวอย่าง การจัดการและเทคนิคที่ใช้ในห้องปฏิบัติการอาจส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบที่ได้ด้วยเช่นกัน 3M ขอแนะนำให้ประเมินวิธีการทดสอบรวมทั้งอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อในสภาพแวดล้อมของผู้ใช้โดยใช้จำนวนตัวอย่างที่เพียงพอกับอาหารแต่ละชนิดและสถานะที่มีความท้าทายกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการดังกล่าวเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้

3M ได้ประเมินชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ด้วยบัฟเฟอร์เปปโตโนวอร์เตอร์ (BFW) ISO

เครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™ มีจุดมุ่งหมายในการใช้กับตัวอย่างที่ได้ผ่านกระบวนการให้ความร้อนในระหว่างขั้นตอนการไลซิสของการทดสอบซึ่งได้รับการออกแบบมาเพื่อทำลายเชื้อที่มีในตัวอย่าง ตัวอย่างซึ่งไม่ได้รับความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการไลซิสของชุดทดสอบอาจถือว่าเป็นสารที่อาจมีอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรรีเสิร์ชเข้าไปในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M

3M Food Safety ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO (องค์การระหว่างประเทศว่าด้วยการมาตรฐาน) 9001 ด้านการออกแบบและการผลิตชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M มีทั้งหมด 96 หลอดทดสอบตามที่อธิบายไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M

รายการ	ลักษณะ	จำนวน	สิ่งที่บรรจุ	ความคิดเห็น
สารละลายไลซิส 3M™ (LS)	สารละลายสีชมพูในหลอดใส	96 หลอด (12 แถว แถวละ 8 หลอด)	ปริมาตรสารละลายไลซิส 3M 580 ไมโครลิตรต่อหลอด	บรรจุอยู่ในที่วางและพร้อมใช้งาน
หลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M™	หลอดสีชมพู	96 หลอด (12 แถว แถวละ 8 หลอด)	ส่วนผสมสำหรับการเพิ่มขยายและการตรวจหาเชื้อโรคระดับโมเลกุลเฉพาะเจาะจงที่ทำแห้งเยือกแข็งแล้ว	พร้อมใช้งาน
ฝาสารอง	ฝาสีชมพู	96 ฝา (12 แถว แถวละ 8 ฝา)		พร้อมใช้งาน
3M™ รีเอเจนต์คอนโทรล (RC)	หลอดใสชนิดเปิดฝาด้านบน	16 หลอด (2 แถว แถวละ 8 หลอด)	ส่วนผสมที่ทำไลโอไฟล์สำหรับควบคุม DNA การเพิ่มขยายและการตรวจหา	พร้อมใช้งาน
คู่มือการเริ่มต้นแบบย่อ		1		

ชุดควบคุมผลลบหรือ Negative Control เป็นอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อที่ปลอดเชื้อ เช่น BPW ISO ไม่ได้รวมอยู่ในชุดอุปกรณ์ ห้ามใช้น้ำเป็นชุดควบคุมผลลบ

ความปลอดภัย

ผู้ใช้ควรอ่าน ทำความเข้าใจ และปฏิบัติตามข้อมูลความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำการใช้งานระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M และ ชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M เก็บคำแนะนำด้านความปลอดภัยนี้ไว้สำหรับใช้อ้างอิงในอนาคต

- △ **คำเตือน:** บ่งชี้ว่าเป็นสถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่มีการหลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดการเสียชีวิตหรือการบาดเจ็บรุนแรงและ/หรือความเสียหายต่อทรัพย์สินได้
- ข้อสังเกต:** ระบบสถานการณ์ที่อาจเป็นอันตราย หากไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อทรัพย์สิน

คำเตือน

ห้ามใช้ชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ในการวินิจฉัยโรคในมนุษย์หรือสัตว์

ผู้ใช้งานต้องทำการฝึกอบรมบุคลากรเกี่ยวกับเทคนิคการทดสอบที่เหมาะสมในปัจจุบัน ตัวอย่างเช่น หลักปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการที่ดี, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ หรือ ISO 7218⁽⁵⁾

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับผลลบลบปลอมซึ่งนำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนไปขาย ให้ปฏิบัติตามนี้:

- ปฏิบัติตามระเบียบการและดำเนินการทดสอบดังที่ระบุไว้อย่างชัดเจนในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิคงที่ในอุณหภูมิระดับ $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ ภายใต้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าช่วงระดับอุณหภูมิบ่มเชื้อในระหว่างการเตรียมตัวอย่าง
- เก็บชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ตามที่ระบุไว้บนบรรจุภัณฑ์และในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- ใช้ชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ก่อนวันหมดอายุเสมอ
- ใช้ชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M กับตัวอย่างอาหารและตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมในกระบวนการผลิตอาหารซึ่งได้รับการพิสูจน์ยืนยันเป็นการภายในหรือโดยหน่วยงานภายนอกแล้ว
- ใช้ชุดทดสอบเชื้อ ฮีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M เฉพาะกับพื้นผิว สารฆ่าเชื้อ ระเบียบการและสายพันธุ์แบคทีเรียที่ผ่านการตรวจสอบภายในหรือโดยบุคคลที่สามแล้วเท่านั้น
- สำหรับตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมที่มีบัฟเฟอร์สำหรับทำให้เป็นกลาง (NB) โดยมีสารประกอบเชิงซ้อนของเอริลซัลโฟเนตอยู่ด้วย ให้ทำการเจือจางด้วยอัตราส่วน 1:2 ก่อนที่จะทดสอบ (เติมตัวอย่าง 1 ส่วนลงในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 ส่วน) อีกหนึ่งตัวเลือกคือถ้ายับฟเฟอรที่เป็นกลางที่มีการเพิ่มเชื้อปริมาณ 10 ไมโครลิตรเข้าไปยังหลอดสารละลายไลซิส 3M ผลิตภัณฑ์เก็บตัวอย่างของ 3M™ ซึ่งประกอบด้วยบัฟเฟอร์สำหรับทำให้เป็นกลางของ 3M™ โดยมีสารประกอบเชิงซ้อนของเอริลซัลโฟเนตมีดังนี้: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB และ HS119510NB

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารเคมีหรือสารอันตรายทางชีวภาพ ให้ปฏิบัติตามนี้:

- ให้ทำการทดสอบเชื้อก่อโรคในห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์อย่างเหมาะสมภายใต้การควบคุมของบุคลากรที่ได้รับการอบรม อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อที่บ่มแล้ว และอุปกรณ์หรือพื้นผิวที่มีการสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อที่บ่มแล้ว อาจจะมีเชื้อโรคในระดับเพียงพอที่จะก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์ได้
- ปฏิบัติตามแนวปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการมาตรฐานทุกครั้งโดยรวมถึงการสวมเครื่องแต่งกายเพื่อป้องกันและอุปกรณ์ปกป้องดวงตาในขณะที่ปฏิบัติงานกับรีเอเจนต์และตัวอย่างที่มีการปนเปื้อน
- หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับอาหารหลังบ่มเพิ่มจำนวนเชื้อและหลอดบรรจุรีเอเจนต์ภายหลังการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ
- กำจัดตัวอย่างอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อและของเสียปนเปื้อนที่เกี่ยวข้อง ตามเกณฑ์มาตรฐานของท้องถิ่น/ภูมิภาค/ประเทศ/อุตสาหกรรมในปัจจุบัน
- ห้ามใช้อุณหภูมิสูงกว่าที่แนะนำไว้บนเครื่องทำความร้อน
- ห้ามใช้เวลาทำความร้อนเกินที่แนะนำ
- ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่ได้รับการสอบเทียบตามมาตรฐานและเหมาะสม เพื่อยืนยันอุณหภูมิของของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M™ (เช่น เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วน หรือเทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิทัล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) จะต้องวางเทอร์โมมิเตอร์ในบริเวณที่กำหนดไว้ของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M

เพื่อลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนข้ามขณะเตรียมชุดทดสอบ ให้ปฏิบัติตามนี้:

- สวมถุงมือตลอดเวลา (เพื่อปกป้องผู้ใช้งานและป้องกันการเกิดนิวคลีเอส)

เพื่อเป็นการลดความเสี่ยงอันเกิดจากการสัมผัสโดนของเหลวร้อน ให้ปฏิบัติตามนี้:

- ห้ามใช้อุณหภูมิสูงกว่าที่แนะนำไว้บนเครื่องทำความร้อน
- ห้ามใช้เวลาทำความร้อนเกินที่แนะนำ
- ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่ได้รับการสอบเทียบตามมาตรฐานและเหมาะสม เพื่อยืนยันอุณหภูมิของของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M™ (เช่น เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วน หรือเทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิทัล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) จะต้องวางเทอร์โมมิเตอร์ในบริเวณที่กำหนดไว้ของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M

ข้อสังเกต

เพื่อลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนข้ามขณะเตรียมชุดทดสอบ ให้ปฏิบัติดังนี้:

- แนะนำให้ใช้ปีเปดที่ระดับชีววิทยาโมเลกุลชนิดที่มีตัวกั้นละอองอากาศ (ชนิดกรองแล้ว) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- ใช้ปีเปดที่ป้อนใหม่สำหรับการถ่ายตัวอย่างในแต่ละครั้ง
- ใช้แนวปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการเพื่อถ่ายตัวอย่างจากอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อที่บ่มแล้วไปยังหลอดสายละลาย ลูซิัส เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนในขั้นตอนการปีเปด ผู้ใช้อาจเพิ่มขั้นตอนระหว่างกลางของการถ่ายตัวอย่างสารละลาย ตัวอย่างเช่น ผู้ใช้อาจถ่ายแต่ละตัวอย่างอาหารที่เพิ่มจำนวนเชื้อแต่ละตัวอย่างใส่เข้าไปในหลอดที่ฆ่าเชื้อแล้ว
- ปฏิบัติการทดสอบทางชีววิทยาโมเลกุลบนโต๊ะที่มีหลอดไฟฟ้าเชื้อหากทำได้

เพื่อลดความเสี่ยงจากผลบวกที่เป็นเท็จ ให้ปฏิบัติดังนี้

- ห้ามเปิดหลอดทดลองภายหลังการเพิ่มขยายจำนวนเชื้อ
- กำจัดหลอดทดลองที่ปนเปื้อนแล้วเสมอ โดยแช่ในน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ผสมกับน้ำตามอัตราส่วน) เป็นเวลา 1 ชั่วโมงและให้อยู่ห่างจากพื้นที่จัดเตรียมชุดทดสอบทุกครั้ง

ศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในเอกสารข้อมูลความปลอดภัยและระเบียบข้อบังคับการกำจัดทิ้งในประเทศ

หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการใช้งานหรือกรรมวิธีที่เฉพาะเจาะจงใดๆ โปรดเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราที่ www.3M.com/foodsafety หรือติดต่อตัวแทนจำหน่ายหรือผู้จัดการจำหน่ายของบริษัท 3M ในท้องถิ่นของท่าน

ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ใช้จะต้องทำความเข้าใจเกี่ยวกับคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์และข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม สามารถเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราได้ที่ www.3M.com/foodsafety หรือติดต่อตัวแทนหรือผู้จัดการจำหน่าย 3M ในพื้นที่ของท่าน

เวลาเลือกวิธีทดสอบ การศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่อาจส่งผลต่อผลการทดสอบเป็นเรื่องสำคัญ เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง ระเบียบการทดสอบ วิธี การเตรียมตัวอย่าง การจัดการควบคุม และเทคนิคของห้องปฏิบัติการที่อาจกระทบต่อผลการทดสอบได้

ผู้ใช้เป็นผู้รับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบหรือวิธีการเลือกตัวอย่าง เพื่อประเมินจำนวนตัวอย่างที่เพียงพอ โดยใช้เมทริกซ์และการตรวจสอบความสามารถในการทำละลายจุลินทรีย์ที่เหมาะสม เพื่อให้ผู้ใช้แน่ใจว่าวิธีการทดสอบที่เลือกนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้เอง

นอกจากนี้ ผู้ใช้จะต้องรับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบและผลลัพธ์ที่ได้ให้เป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและของผู้จัดส่งสินค้า

เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่นๆ ผลการทดสอบที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ 3M Food Safety ได้ก็ตาม ไม่ได้รับประกันถึงคุณภาพของเมทริกซ์หรือขั้นตอนที่ใช้ทดสอบ

3M ได้พัฒนาชุดน้ำยาควบคุมเพื่อทดสอบผลของส่วนประกอบในตัวอย่างแต่ละประเภทโดยวิธี 3M™ เพื่อช่วยให้ลูกค้าประเมินวิธีการสำหรับเมทริกซ์ต่างๆ ของอาหารได้ ในกรณีจำเป็น ให้ใช้ชุดน้ำยาควบคุมเพื่อทดสอบผลของส่วนประกอบในตัวอย่างแต่ละประเภท (MC) เพื่อทดสอบว่าเมทริกซ์นั้นสามารถส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบของชุดทดสอบเชื้ออีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M หรือไม่ ทดสอบตัวอย่างหลายๆ ตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของเมทริกซ์นั้นๆ เช่น ตัวอย่างที่ได้จากแหล่งกำเนิดที่แตกต่างกัน ตัวอย่างที่ได้ในระหว่างการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบต่างๆ เมื่อนำวิธีการของ 3M มาใช้ หรือเมื่อทำการทดสอบเมทริกซ์ใหม่หรือที่ไม่รู้จัก หรือเมทริกซ์ที่ผ่านการเปลี่ยนแปลงวัตถุดิบหรือการแปรรูป

สามารถให้คำจำกัดความของเมทริกซ์ได้ว่า เป็นชนิดของผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติที่ต่างกัน เช่น องค์ประกอบหลักและกระบวนการแปรรูปที่ต่างกัน ความแตกต่างระหว่างเมทริกซ์ต่าง ๆ อาจจะเป็นเพียงผลที่เกิดจากความแตกต่างในกระบวนการแปรรูปหรือสภาพลักษณะของเมทริกซ์ เช่น ดิบกับผ่านการฆ่าเชื้อแบบพาสเจอร์ไรซ์ สดกับแห้ง ฯลฯ

เงื่อนไขการรับประกัน/การชดเชยแบบจำกัด

3M ปฏิเสธการรับประกันทั้งหมดทั้งอย่างชัดแจ้งและโดยนัย รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการรับประกันใดๆ ถึงความสามารถในการจำหน่ายหรือความเหมาะสมสำหรับการใช้งานโดยเฉพาะ เว้นแต่จะได้อธิบายไว้อย่างชัดแจ้งในส่วนการรับประกันแบบจำกัดว่าด้วยบรรพบุรุษของผลิตภัณฑ์แต่ละชิ้น หากผลิตภัณฑ์ 3M Food Safety ใดๆ มีตำหนิบกพร่อง บริษัท 3M หรือผู้จัดการจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตของบริษัทจะใช้ดุลยพินิจของตนในการพิจารณาเปลี่ยนแทนผลิตภัณฑ์หรือคืนเงินค่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าว และถือเป็นการชดเชยเพียงอย่างเดียวเท่านั้น หากสงสัยว่ามีข้อบกพร่องหรือความเสียหายกับสินค้า ท่านต้องแจ้ง 3M ภายใน 60 วันหลังจากที่พบ และทำการคืนสินค้าที่เสียหายให้ทาง 3M โปรดโทรติดต่อแผนกบริการลูกค้า (1-800-328-1671 ในสหรัฐอเมริกา) หรือตัวแทน 3M Food Safety เพื่อขอสิทธิ์ส่งคืนผลิตภัณฑ์

ขอบเขตความรับผิดชอบของ 3M

3M จะไม่รับผิดชอบต่อการสูญเสียหรือความเสียหายใดๆ ทั้งโดยตรง โดยอ้อม ความเสียหายจำเพาะ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการผิดสัญญา หรือที่เป็นผลสืบเนื่อง รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ความรับผิดชอบของทาง 3M ในทางกฎหมายจะต้องไม่เกินมูลค่าของผลิตภัณฑ์ที่เสียหายหรือบกพร่องไม่ว่ากรณีใดๆ ก็ตาม

การเก็บรักษาและการกำจัด

เก็บชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C อย่างแช่แข็ง เก็บชุดอุปกรณ์ให้พ้นแสงในระหว่างการเก็บรักษา หลังจากเปิดชุดอุปกรณ์แล้ว ให้ตรวจสอบว่าถุงพอลิโพรไพลีนไม่ชำรุดเสียหาย หากถุงพอลิโพรไพลีนชำรุดเสียหาย ห้ามใช้ผลิตภัณฑ์นั้น หลังจากเปิดแล้ว ควรเก็บรักษาหลอดรีเอเจนต์ที่ยังไม่ได้ใช้ไว้ในถุงที่ซีลปิดซ้ำได้โดยมีสารดูดความชื้นใส่อยู่ภายในเพื่อให้รีเอเจนต์ที่แห้งเยือกแข็งแล้วอยู่ในสภาวะคงตัว เก็บรักษาถุงที่ซีลปิดซ้ำแล้วไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C เป็นเวลาไม่เกิน 60 วัน

อย่าใช้ชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ที่เลยวันหมดอายุแล้ว วันหมดอายุและหมายเลขล็อตจะแสดงไว้บนฉลากด้านนอกของกล่อง หลังใช้งาน อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อและหลอดชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M อาจมีสารก่อให้เกิดโรครอคอยู่ เมื่อการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว ให้ปฏิบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรมในปัจจุบันสำหรับการกำจัดและทิ้งขยะปนเปื้อน ศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในเอกสารข้อมูลความปลอดภัยและระเบียบข้อบังคับการกำจัดทิ้งในประเทศ

คำแนะนำการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ หากไม่ปฏิบัติตามเช่นนั้น อาจให้ผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำได้

ผู้ใช้ควรผ่านการฝึกอบรมคุณสมบัติสำหรับผู้ปฏิบัติงานระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ตามที่ระบุในเอกสาร “แนวทางและระเบียบการด้านคุณสมบัติการติดตั้ง (IQ) / คุณสมบัติการปฏิบัติการ (OQ) สำหรับระบบการทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M”⁽⁷⁾

ลดการปนเปื้อนบนโต๊ะปฏิบัติงานและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (ปิเปต เครื่องมือเปิด/ปิดฝา ฯลฯ) อย่างสม่ำเสมอด้วยน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ผสมกับน้ำตามอัตราส่วน) หรือสารละลายกำจัดดีเอ็นเอ

ดูในส่วน “คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีการที่ได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี” สำหรับข้อกำหนดเฉพาะ:

ตารางที่ 3 สำหรับระเบียบการเพิ่มจำนวนเชื้อตามวิธีการวิเคราะห์ AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

ตารางที่ 4 สำหรับระเบียบการเพิ่มจำนวนเชื้อตามใบรับรองของ NF Validation 3M 01/18-05/17

การเพิ่มจำนวนเชื้อในตัวอย่าง

ตารางที่ 2, 3 หรือ 4 แสดงคำแนะนำสำหรับระเบียบการเพิ่มจำนวนเชื้อสำหรับอาหาร ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการตรวจสอบระเบียบการสุ่มตัวอย่างหรืออัตราส่วนการเจือจางแบบอื่นว่าใช้ได้ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการทดสอบนั้นสอดคล้องกับเกณฑ์ของผู้ใช้งาน

อาหาร

1. อุณหภูมิเลี้ยงเชื้อ BPW ISO ไว้ก่อนล่วงหน้าในระดับอุณหภูมิ $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$
2. ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากับตัวอย่างในลักษณะปลอดเชื้อโดยเป็นไปตามตารางที่ 2, 3 หรือ 4 สำหรับตัวอย่างประเภทเนื้อสัตว์ทั้งหมดที่มีลักษณะเป็นละอองอนุภาคขนาดเล็ก แนะนำให้ใช้ถุงกรอง
3. ทำให้สารเมทริกซ์ทั้งหมดเป็นเนื้อเดียวกันด้วยวิธีการปั่นผสมให้เข้ากัน เขย่า หรือ ผสมด้วยมือเป็นเวลา 2 ± 0.2 นาทียกเว้นพืชผักและผลไม้ ปมเชื้อที่อุณหภูมิ $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ เป็นเวลาที่เหมาะสมตามตารางที่ 2, 3 หรือ 4

ตารางที่ 2 ระเบียบการของอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อทั่วไป

เมทริกซ์ตัวอย่าง ^(ก)	ขนาดตัวอย่าง	ปริมาตรอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ (มล.)	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ ($\pm 1^\circ\text{C}$)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)
เนื้อวัวดิบที่รวมถึงเนือบด/สับและเศษชิ้นเนื้อ	325 g	975 BPW ISO (อุ่นไว้ก่อนแล้ว)	41.5	10-18
เนื้อดิบที่รวมถึงเนื้อวัว เนื้อหมู เนื้อสัตว์ปีก เนื้อแกะ และเนื้อวัวกระทิงดิบ	25 g	225 BPW ISO (อุ่นไว้ก่อนแล้ว)	41.5	8-18
พืชผัก ^(ข)	200 g	450 BPW ISO (อุ่นไว้ก่อนแล้ว)	41.5	18-24
อาหารอื่น ๆ ที่รวมถึงผลไม้ ^(ข) ผัก น้ำผลไม้/ผัก สมุนไพรสด อาหารทะเลดิบ ไข่ดิบ นมสด ลูกเกดดิบ และเนื้อที่ผ่านการแปรรูปแล้ว	25 g	225 BPW ISO (อุ่นไว้ก่อนแล้ว)	41.5	18-24
วอลนัทหรือถั่วเปลือกแข็งต่างๆ ที่ผสมด้วยวอลนัท (ขั้นตอนวิธีนี้เหมาะสำหรับถั่วไม่เปลือกแข็งชนิดอื่นๆ ที่รวมถึงพีแคน อัลมอนด์ พิสตาชิโอ เม็ดมะม่วงหิมพานต์ และเกาลัด)	25 g	225 นมผงคินรูปชนิดขาดมันเนย	41.5	18-24

(ก) ควรทำให้ตัวอย่างที่แช่แข็งปรับสมดุลที่อุณหภูมิระดับ $4-8^\circ\text{C}$ ก่อนเติมตัวอย่างลงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ

(ข) ควรกวนตัวอย่างประเภทพืชผักและผลไม้ไปมาด้วยมืออย่างเบาๆ เป็นเวลา 5 นาที อย่าปั่นผสมหรือเขย่า

คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีการทดสอบที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี AOAC® *Official Methods of Analysis*SM 2017.01

ในแผนงานการวิเคราะห์ของ AOAC *Official Method of Analysis*SM พบว่าชุดทดสอบเชื้ออีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการตรวจจับเชื้อ *อีโคไล* O157:H7 เมทริกซ์ที่ได้รับการทดสอบในการศึกษาดังกล่าวแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ระเบียบการเพิ่มจำนวนเชื้อโดยการไ้ BPW ISO ที่อุ่นไว้ก่อนแล้วที่ระดับอุณหภูมิ 41.5 ± 1°C ตามแนวทางของ AOAC® Official MethodsSM 2017.01

เมทริกซ์ตัวอย่าง	ขนาดตัวอย่าง	ปริมาตรอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ (มล.)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)	การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน
เนื้อวัวดิบ (73% ไม่มีไขมัน)	325 g	975	10-18	ด้วยการใช้มือหรือโดยการเขย่า
ผักขมดิบบรรจุถุง ^(ก)	200 g	450	18-24	ใช้มือกวนเบาๆ เป็นเวลา 5 นาที อย่าทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน
เมล็ดงอกสด	25 g	225	18-24	ใช้มือกวนเบาๆ เป็นเวลา 5 นาที อย่าทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน
บลูเบอร์รี่แช่แข็ง ^(ข)	25 g	225	18-24	ใช้มือกวนเบาๆ เป็นเวลา 5 นาที อย่าทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน

(ก) ควรกวนตัวอย่างประเภทพืชผักและผลไม้ไปมาด้วยมือเบาๆ เป็นเวลา 5 นาที อย่าปั่นผสมหรือเขย่า

(ข) ควรทำให้ตัวอย่างที่แช่แข็งปรับสมดุลที่อุณหภูมิระดับ 4-8°C ก่อนเติมตัวอย่างลงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ

NF Validation โดย AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับการสิ้นสุดการบังคับใช้ของผลจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ โปรดอ่านเอกสารรับรองของ NF VALIDATION ที่พร้อมมาให้ใช้งานได้ตามเว็บไซต์ที่ระบุไว้ข้างต้น

วิธีการที่ได้รับการรับรองมาตรฐานของ NF VALIDATION ตามมาตรฐาน ISO 16140-2⁽⁸⁾ เมื่อเปรียบเทียบกับ ISO 16654⁽³⁾

ขอบเขตของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ มีดังต่อไปนี้: เนื้อวัวดิบ ผลិតภักข์นมดิบ ผลไม้และผักดิบ

การเตรียมตัวอย่าง: เตรียมตัวอย่างตาม EN ISO 16654 และ EN ISO 6887⁽⁶⁾

เวอร์ชันซอฟต์แวร์: ดูใบรับรอง

ตารางที่ 4 ระเบียบการเพิ่มจำนวนเชื้อโดยการไ้ BPW ISO ที่อุ่นไว้ก่อนแล้วที่ระดับอุณหภูมิ 41.5 ± 1°C ตามวิธีการที่ได้รับการรับรองของ NF VALIDATION 3M 01/18-05/17

ระเบียบการ	ขนาดตัวอย่าง	ปริมาตรอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ (มล.)	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (±1°C)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)
ผลិតภักข์นมดิบ ผลไม้ดิบและผักดิบ	25 g	225	41.5	18-24
เนื้อวัวดิบ	25 g	225	41.5	8-24

หมายเหตุ:

- ตัวอย่างที่มีปริมาณมากกว่า 25 กรัมไม่ได้นำมาทดสอบในการศึกษาของ NF VALIDATION
- จุดขั้วตั้งหุระเบียบการที่แนะนำคือช่วงภายหลังการเลี้ยงเชื้อหรือภายหลังการแยกสลายตัวอย่าง (sample lysis) อาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อ หรือไลเซตตัวอย่างสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C ได้นานที่สุดเป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนำอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อออกจากที่เก็บ ให้ทำการทดสอบจากชั้นที่ 1 ในหัวขอ **ไลซีส** หลังจากนำไลเซตตัวอย่างออกจากที่เก็บ ให้ทำการทดสอบจากชั้นที่ 7 ในหัวขอ **ไลซีส** นอกจากนี้ยังสามารถเก็บไลเซตตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20°C
- ระเบียบการเพิ่มจำนวนเชื้อที่มีระยะสั้นจะไวต่อสภาวะการบ่มเชื้อและต้องปฏิบัติตามอุณหภูมิที่ระบุไว้ในขั้นตอนวิธี ควรตรวจสอบยืนยันอุณหภูมิในอ่างน้ำหรือตูมเชื้อที่ซึ่งได้อุ่นไว้ก่อนแล้วเพื่อให้แน่ใจว่าการอาหารเหลวมีระดับอุณหภูมิตามที่กำหนดไว้ ระยะเวลาทั้งหมดสำหรับการเตรียมตัวอย่างที่รวมถึงความลาซาระหว่างช่วงสิ้นสุดของขั้นตอนการอุ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ ไวลวงหน่าไปจนถึงช่วงเริ่มต้นของการบ่มตัวอย่างอาหารจะต้องมีระยะเวลาไม่เกิน 45 นาที แนะนำให้ใช้ตูมเชื้อที่มีช่องระบายอากาศในระหว่างการบ่มเชื้อ

การเตรียมภาตใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™

1. ชุบผ้าหรือกระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งในน้ำยาฟอกขาว 1-5% (ผสมกับน้ำตามอัตราส่วน) และเช็ดภาตใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M
2. ใช้น้ำล้างภาตใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M นี้
3. ใช้กระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งเช็ดภาตใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ให้แห้ง
4. ตรวจสอบให้แน่ใจว่าภาตใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M แห่งสนิทก่อนใช้งาน

การเตรียมซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™

วางซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M บนโต๊ะปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการโดยตรง: ไม่ใช้ภาตวางซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ใช้ซิลบล็อคที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (20-25°C)

การเตรียมฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™

วางฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ในเครื่องทำความร้อนบล็อคแบบแห้ง เปิดเครื่องทำความร้อนบล็อคแบบแห้ง และตั้งอุณหภูมิเพื่อให้ฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึง $100 \pm 1^\circ\text{C}$

หมายเหตุ: ให้ฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M มีอุณหภูมิตามที่กำหนดโดยทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการทำงานของเครื่องทำความร้อน ไซเทอร์โมมิเตอร์ที่ได้รับการสอบเทียบอย่างเหมาะสม (เช่น เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วน เทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิตอล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) วางไว้ในบริเวณที่กำหนด ตรวจสอบให้อุณหภูมิของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M อยู่ที่ $100 \pm 1^\circ\text{C}$

การเตรียมเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™

1. เริ่มต้นการใช้งานซอฟต์แวร์สำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™ แล้วลงชื่อเข้าสู่ระบบ ติดต่อดั้วแทนของ 3M Food Safety ของคุณเพื่อให้แน่ใจว่าคุณมีซอฟต์แวร์เวอร์ชันที่อัปเดตล่าสุด
2. เปิดเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M
3. สร้างหรือแก้ไขชุดการทดสอบที่มีข้อมูลสำหรับแต่ละตัวอย่าง ดูรายละเอียดเพิ่มเติมในคู่มือการใช้งานระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™

หมายเหตุ: ต้องรอให้เครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ถึงระดับอุณหภูมิ 60°C และคงอยู่ในระดับอุณหภูมิดังกล่าวก่อนที่จะใส่ภาตใส่หลอดทดสอบเข้าเครื่องทดสอบเชื้อระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ขั้นตอนของการทำความร้อนนี้ใช้เวลาประมาณ 20 นาทีและบ่งชี้ด้วยไฟสีส้มบนแถบบอกสถานะของเครื่อง เมื่อเครื่องมือพร้อมที่จะเริ่มดำเนินการทำงาน แถบบอกสถานะดังกล่าวจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว

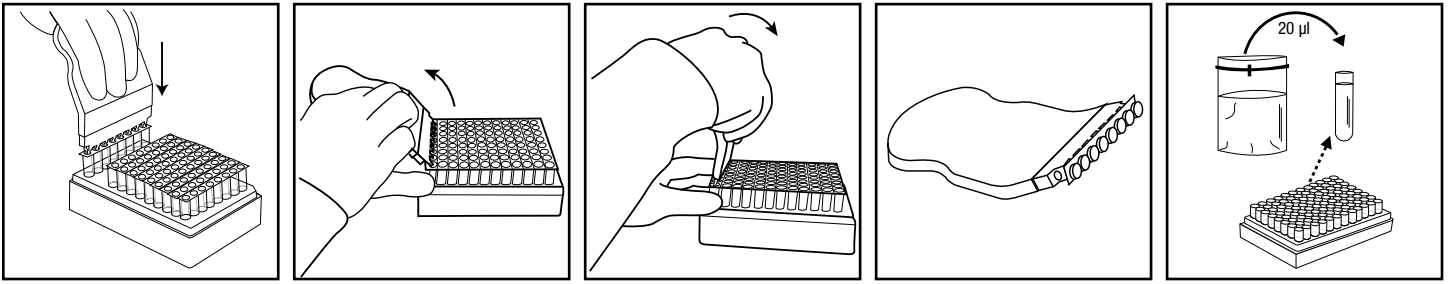
ไลซีส

1. รอให้หลอดสารละลายไลซีส 3M อุ่นขึ้นโดยตั้งที่วางที่ระดับอุณหภูมิห้อง (20-25°C) นานข้ามคืน (16-18 ชั่วโมง) ทางเลือกอื่นๆ นอกเหนือจากการวางหลอดสารละลายไลซีส 3M ไว้ในอุณหภูมิห้องได้แก่ การวางไว้บนโต๊ะของห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 2 ชั่วโมง การนำหลอดสารละลายไลซีส 3M ไปบ่มในที่ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือวางหลอดสารละลายไลซีสบนเครื่องทำความร้อนแบบแห้งเป็นเวลา 30 วินาทีที่อุณหภูมิ 100°C
2. พลิกหลอดสารละลายไลซีสที่ปิดฝาอยู่ เพื่อผสมให้เข้ากัน ดำเนินการต่อในขั้นถัดไปภายใน 4 ชั่วโมง
3. นำอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อออกจากตู้บ่มเชื้อ
4. ตัวอย่างแต่ละชนิดและตัวอย่างชุดควบคุมผลลบ (NC) (อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปลอดเชื้อ) จะต้องใช้หลอดสารละลายไลซีส 3M หนึ่งหลอดต่อหนึ่งตัวอย่าง
 - 4.1 แก้วของหลอดสารละลายไลซีส 3M สามารถต้อออกเพื่อให้มีจำนวนหลอดสารละลายไลซีส 3M ตามที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอดสารละลายไลซีส 3M แต่ละหลอดหรือแก้วที่มี 8 หลอด ตามความจำเป็น วางหลอดสารละลายไลซีส 3M ลงในที่วางที่วางอยู่
 - 4.2 เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม ให้เปิดฝาของหลอดสารละลายไลซีส 3M ทั้งแก้วในครั้งเดียว และใช้ปิเปตที่ป้อนใหม่สำหรับถ่ายตัวอย่างในแต่ละขั้นตอน
 - 4.3 ถ่ายตัวอย่างที่เพิ่มจำนวนเชื้อแล้วไปยังหลอดสารละลายไลซีส 3M ตามคำอธิบายด้านล่างนี้:

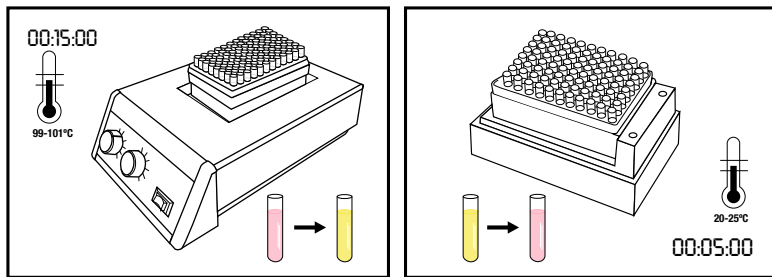
ถ่ายตัวอย่างที่เพิ่มจำนวนเชื้อแต่ละตัวอย่างลงไปหลอดสารละลายไลซีส 3M แต่ละหลอด เป็นอันดับแรก ถ่าย NC เป็นอันดับสุดท้าย

- 4.4 ใช้อุปกรณ์เปิดปิดฝาหลอดสารละลายไลซีสโดยวิธี 3M™ ในการเปิดฝาหลอดสารละลายไลซีส 3M ที่ละแก้ว
- 4.5 ทิ้งฝาหลอดสารละลายไลซีส 3M – หากจะเก็บไลเซตเอาไว้เพื่อทดสอบซ้ำ ให้วางฝาในภาชนะที่สะอาดเพื่อนำกลับมาใช้ซ้ำ
 - 4.5.1 หากต้องการดูข้อมูลเกี่ยวกับการดำเนินการกับไลเซตที่เก็บไว้ โปรดดูภาคผนวก A

4.6 ถ่ายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตรลงในหลอดสารละลายไลซีส 3M ยกเว้นว่าจะระบุไว้เป็นปริมาณอื่นตามตารางระเบียบการ 2, 3 และ 4



5. ทำซ้ำขั้นตอนที่ 4.3 จนกระทั่งเติมตัวอย่างแต่ละตัวอย่างลงในหลอดสารละลายไลซีส 3M ในแถวดังกล่าวเสร็จสิ้น
6. ทำซ้ำขั้นตอน 4.1 ถึง 4.6 ตามความจำเป็นสำหรับจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ
7. เมื่อถ่ายตัวอย่างทั้งหมดเสร็จแล้ว ให้ถ่าย NC (อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อ ที่ปลอดเชื้อ เช่น BPW ISO) ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดสารละลายไลซีส 3M ห้ามใช้น้ำเป็น NC
8. ตรวจสอบว่าอุณหภูมิของฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M อยู่ที่ $100 \pm 1^{\circ}\text{C}$
9. วางที่วางหลอดสารละลายไลซีส 3M ที่ไม่มีฝาปิด ลงในฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M และเพิ่มความร้อนเป็นเวลา 15 ± 1 นาที ระหว่างการอุ่นร้อน หลอดสารละลายไลซีส 3M จะเปลี่ยนจากสีชมพู (เย็น) เป็นเหลือง (ร้อน) ตัวอย่างซึ่งไม่ได้รับความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการไลซีสของชุดทดสอบอาจถือว่าเป็นสารที่อาจมีอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M
10. นำที่วางหลอดสารละลายไลซีส 3M ที่ไม่ได้ปิดฝาดออกจากฮีทบล็อกและปล่อยให้เย็นลงในซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M อย่างน้อย 5 นาทีแต่ไม่เกิน 10 นาที การใช้งานซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ให้วางไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่มีภาควางซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี 3M โดยควรวางลงบนโต๊ะปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการโดยตรง เมื่อเย็นลงแล้ว สารละลายไลซีสก็จะเปลี่ยนกลับเป็นสีชมพู
11. นำที่วางหลอดสารละลายไลซีส 3M ออกจากซิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M



การเพิ่มขยาย

1. ต้องมีหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อ *อีโคไล* O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M หนึ่งหลอดสำหรับตัวอย่างแต่ละชนิด และสำหรับ NC
 - 1.1 สามารถตัดแถวของหลอดออก เพื่อให้มีจำนวนหลอดตามที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อ *อีโคไล* O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M แต่ละหลอด หรือแถวที่มี 8 หลอด ตามต้องการ
 - 1.2 วางหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อ *อีโคไล* O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ลงในที่วางที่ยังว่างอยู่
 - 1.3 หลีกเลียงการรบกวนเมตริเอเจนต์ที่กั้นหลอด
2. เลือกหลอด 3M รีเอเจนต์คอนโทรลหนึ่งหลอดแล้ววางลงในที่วาง
3. เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม ให้เปิดฝาหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อ *อีโคไล* O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ทั้งแถวในครั้งเดียวและใช้ปิเปตที่ป้อนใหม่สำหรับถ่ายตัวอย่างในแต่ละขั้นตอน
4. ถ่ายไลเซตไปยังหลอดรีเอเจนต์และหลอด 3M รีเอเจนต์คอนโทรลของชุดทดสอบเชื้อ *อีโคไล* O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ตามคำอธิบายด้านล่าง:

ถ่ายไลเซตของแต่ละตัวอย่างไปยังหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อ *อีโคไล* O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M แต่ละชุด ก่อนแล้วจึงถ่าย NC เพิ่มสารละลายลงในหลอด 3M รีเอเจนต์คอนโทรลเป็นลำดับสุดท้าย

5. ใช้เครื่องมือเปิด/ปิดฟาริเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M™ ในการเปิดหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ที่ละแถว ฝั่งฝาปิด

5.1 ถ่ายไลเซตของตัวอย่างปริมาณ 20 ไมโครลิตร จากด้านบน 1/2 ของของเหลว (หลีกเลี่ยงตะกอน) ในหลอดสารละลายไลซีส 3M เข้าไปในหลอดรีเอเจนต์ของ ชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ปลอ่ยสารละลายด้านข้างหลอด เพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนเมตริเอเจนต์ที่กั้นหลอด ผสมโดยใช้ปิเปต ดูดขึ้นและลงเบา ๆ 5 ครั้ง

5.2 ทำซ้ำขั้นตอนที่ 5.1 จนว่าจะเติมแต่ละไลเซตตัวอย่างลงไป ในหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ในแถวนั้น

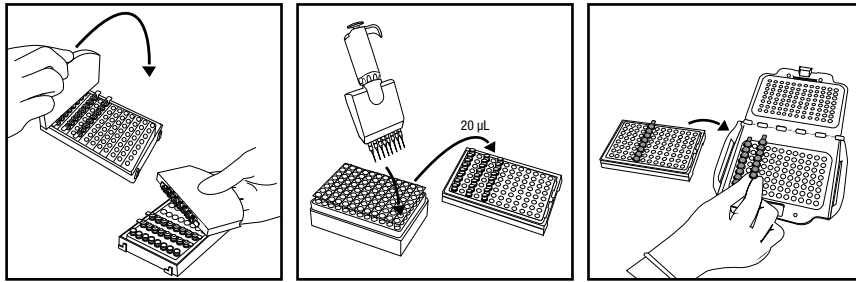
5.3 ปิดหลอดรีเอเจนต์ของ ชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ด้วยฝาที่ให้มาและใช้ด้านมนของเครื่องมือเปิด/ปิดฟาริเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M กดเข้าไปเข้ามาเพื่อให้แน่ใจว่าฝาปิดสนิท

5.4 ทำซ้ำขั้นตอน 5.1 ถึง 5.3 ตามความจำเป็นสำหรับจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ

5.5 เมื่อถ่ายไลเซตตัวอย่างทั้งหมดแล้ว ให้ทำซ้ำขั้นตอนที่ 5.1 ถึง 5.3 เพื่อถ่ายไลเซต NC ปริมาณ 20 ไมโครลิตร เข้าไปในหลอดรีเอเจนต์ ชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M

5.6 ถ่ายไลเซต NC ปริมาณ 20 ไมโครลิตร เข้าไปในหลอด 3M รีเอเจนต์คอนโทรล ปลอ่ยสารละลายด้านข้างหลอด เพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนเมตริเอเจนต์ที่กั้นหลอด ผสมโดยใช้ปิเปต ดูดขึ้นและลงเบา ๆ 5 ครั้ง

6. บรรจุหลอดที่ปิดฝาแล้วลงในภาชนะใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ที่สะอาดและจัดการปนเปื้อนแล้ว จากนั้นปิดฝาให้สนิท



7. พิจารณาบททวนและยืนยันการดำเนินการที่กำหนดค่าไว้ในซอฟต์แวร์ทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M

8. คลิปุ่ม Start ในซอฟต์แวร์ แล้วเลือกเครื่องมือที่จะใช้ ฝาปิดของอุปกรณ์ที่เลือกจะเปิดโดยอัตโนมัติ

9. ใส่ภาชนะใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M แล้วปิดฝาเพื่อเริ่มต้นการทดสอบ ระบบจะให้ผลการทดสอบภายในเวลา 60 นาที แม้ว่าผลที่เป็นบวกอาจจะตรวจจับได้เร็วกว่านั้นก็ตาม

10. หลังจากการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว ให้นำภาชนะใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M ออกจากเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M แล้วกำจัดหลอดเหล่านั้นทิ้งโดยแช่ในน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ในน้ำที่มีปริมาตรเท่ากัน) นาน 1 ชั่วโมง และปฏิบัติให้ห่างจากพื้นที่จัดเตรียมชุดทดสอบ

ข้อสังเกต: เพื่อลดความเสี่ยงในการได้ผลบวกปลอมอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนข้าม ห้ามเปิดหลอดรีเอเจนต์ซึ่งบรรจุ DNA ที่เพิ่มขยายแล้ว ซึ่งรวมถึง 3M รีเอเจนต์คอนโทรล หลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M และหลอดเมตริกซคอนโทรลโดย 3M กำจัดทิ้งหลอดรีเอเจนต์ที่ปิดฝาแล้วทุกครั้งโดยลงในสารซักฟอกในครัวเรือน ความเข้มข้น 1-5% (ต่อปริมาตรน้ำ) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และห่างจากบริเวณเตรียมการทดสอบ

ผลการทดสอบและการแปลความหมาย

อัลกอริทึมจะแปลความหมายเส้นโค้งของแสงที่ส่งออกมาอันเป็นผลมาจากการตรวจพบการเพิ่มขยายของกรดนิวคลีอิก ซอฟต์แวร์จะวิเคราะห์ผลการทดสอบนี้โดยอัตโนมัติและจะมีการเข้ารหัสสีตามผลที่ได้ดังกล่าว ผลการทดสอบที่ให้ค่าเป็นบวกหรือลบจะพิจารณาตัดสินโดยการวิเคราะห์พารามิเตอร์ของเส้นโค้งที่มีลักษณะเฉพาะตัวจำนวนหนึ่ง ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกจะได้รับการรายงานในทันที ขณะที่ผลการทดสอบที่เป็นลบและผลที่นำเสนอจะแสดงผลภายหลังการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว

ตัวอย่างที่สันนิษฐานว่าเป็นบวกควรได้รับการยืนยันตามขั้นตอนการปฏิบัติการตามมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ หรือโดยปฏิบัติตามการยืนยันวิธีการอ้างอิงที่เหมาะสม^(1,2,3) ที่เริ่มต้นด้วยการถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อ BPW ISO ปฐมภูมิไปยังอาหารเหลวทุติยภูมิตามด้วยการเลี้ยงเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อและการยืนยันการแยกเชื้อโดยใช้วิธีการทางชีวเคมีและและเชรุมวิทยาที่เหมาะสม

หมายเหตุ: ตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบก็จะไม่ให้ค่าที่อ่านได้เป็นศูนย์ เนื่องจากระบบและรีเอเจนต์ในการเพิ่มขยายสำหรับชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M จะมี "ค่าพื้นหลัง" ในหน่วยแสงสัมพัทธ์ (RLU)

ในบางครั้งอาจพบว่าแสงที่ได้จากปฏิกิริยานี้มีลักษณะผิดปกติ อัลกอริทึมดังกล่าวจะถูกตีความออกมาว่าเป็น "ผลที่นำเสนอ" บริษัท 3M แนะนำให้ผู้ทำการทดสอบนี้ซ้ำสำหรับตัวอย่างที่ให้ผลที่นำเสนอ หากผลการทดสอบยังคงเป็นนำเสนอ ให้ทำการทดสอบเพื่อยืนยันโดยใช้วิธีการตามที่ต้องการหรือตามที่ระบุโดยหน่วยงานกฎระเบียบในประเทศ

กรณีผลการทดสอบไม่สอดคล้อง (ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกด้วยการใช้ชุดทดสอบเชื้อ อีโคไล O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ที่ยังไม่ได้รับการยืนยันจากหนึ่งในเครื่องมือที่อธิบายไว้ข้างต้นและโดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการทดสอบ latex agglutination) ห้องปฏิบัติการจะต้องปฏิบัติตามขั้นตอนที่จำเป็นเพื่อตรวจสอบว่าผลการทดสอบที่ได้รับถูกต้อง

การตรวจสอบยืนยันผลการทดสอบตามวิธีที่ได้รับการรับรองของ NF VALIDATION

ในบริบทของ NF VALIDATION ตัวอย่างทั้งหมดที่ระบุไว้ว่ามีผลเป็นบวกในการทดสอบด้วยชุดทดสอบเชื้อ *อีโคไล* O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ต้องได้รับการยืนยันจากหนึ่งในการทดสอบต่อไปนี้:

ตัวเลือกที่ 1: การใช้มาตรฐาน ISO 16654⁽³⁾ ที่เริ่มต้นตั้งแต่การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อบัพเฟอร์เปปโตโนวอร์เตอร์⁽³⁾

ตัวเลือกที่ 2: การใช้วิธีการยืนยันที่ประกอบด้วยวิธีการต่อไปนี้: ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อบัพเฟอร์เปปโตโนวอร์เตอร์⁽³⁾ ในปริมาณ 50 ไมโครลิตร ในลักษณะเป็นแนวเส้นตรงลงบนจานเพาะเชื้อ Cefixime Potassium Tellurite Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾ บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37°C ใส่โคโลนีที่มีคุณลักษณะจำเพาะลงบนจานเลี้ยงเชื้อในลักษณะเป็นแนวเส้นตรงและทำการทดสอบการเกาะกลุ่มของเชื้อด้วยวิธีการทดสอบ latex agglutination โดยทำการทดสอบโดยตรงบนโคโลนีที่ได้แยกเดี่ยว หากผลการทดสอบของชุดทดสอบเชื้อ *อีโคไล* O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M ยังไม่ได้รับการยืนยันใดๆ ให้ดำเนินการในขั้นตอนการแยกเชื้อด้วยเทคนิค immunomagnetic separation และจากนั้นใส่อาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณ 50 ไมโครลิตรลงบนจานเพาะเชื้อ CT-SMAC ในลักษณะแนวเส้นตรง

ตัวเลือกที่ 3: การใช้โพรบวัดกรดนิวคลีอิกดังที่อธิบายไว้ในมาตรฐาน EN ISO 7218⁽⁵⁾ ซึ่งดำเนินการบนโคโลนีที่ได้แยกเชื้อ (ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์หรือที่ไม่ได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์) จากจานเพาะเชื้อ CT-SMAC (โปรดดูในตัวเลือกที่ 1 หรือ ตัวเลือกที่ 2) โพรบวัดกรดนิวคลีอิกต้องไม่ใช่โพรบตัวที่นำมาใช้ในชุดทดสอบเชื้อ *อีโคไล* O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M

ตัวเลือกที่ 4: สำหรับการใช่วิธีการอื่นใดที่ได้รับการรับรองจาก NF VALIDATION หลักการของวิธีการทดสอบจะต้องแตกต่างจากหลักการของชุดทดสอบเชื้อ *อีโคไล* O157 (รวมทั้ง H7) ระดับโมเลกุล 2 โดยวิธี 3M จะต้องใช้ระเบียบการแบบครบถ้วนสมบูรณ์ที่อธิบายไว้สำหรับวิธีการที่สองที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้นี้ ขั้นตอนทั้งหมดก่อนการเริ่มต้นการยืนยันจะต้องเหมือนกันกับทั้งสองวิธีการ

กรณีผลการทดสอบไม่สอดคล้อง (ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกในการทดสอบด้วยวิธีการอื่นยังไม่ได้รับการยืนยันจากหนึ่งในเครื่องมือที่อธิบายไว้ข้างต้น) ห้องปฏิบัติการจะต้องปฏิบัติตามขั้นตอนที่จำเป็นเพื่อตรวจสอบว่าผลการทดสอบที่ได้รับถูกต้อง

หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการใช้งานหรือกรรมวิธีที่เฉพาะเจาะจงใดๆ โปรดเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราที่ www.3M.com/foodsafety หรือติดต่อตัวแทนจำหน่ายหรือผู้จัดจำหน่ายของบริษัท 3M ในท้องถิ่นของท่าน

ภาคผนวก A การหยุดการทดสอบชั่วคราว: การจัดเก็บตัวอย่างและการทดสอบซ้ำ

1. หากต้องการเก็บไลเซตที่ผ่านความร้อนมาแล้ว ให้ปิดฝาหลอดสารละลายไลซีสด้วยฝาที่สะอาด (โปรดดู **ไลซีส** ในข้อ 4.5)
2. หากต้องการจัดเก็บตัวอย่างที่ได้เพิ่มจำนวนเชื้อแล้ว ให้บ่มเชื้อไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 18 ชั่วโมงก่อนการจัดเก็บ
3. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ถึง 8°C ไม่เกิน 72 ชั่วโมง
4. เตรียมตัวอย่างที่เก็บไว้ โดยพลิกหลอดสารละลายไลซีสไปมา 2-3 ครั้งเพื่อผสมตัวอย่างให้เข้ากัน
5. เปิดฝาหลอด
6. ใส่หลอดไลเซตที่ผสมตัวอย่างเข้ากันแล้วลงในฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M และให้ความร้อนที่ 100 ± 1°C เป็นเวลา 5 ± 1 นาที
7. นำที่วางหลอดสารละลายไลซีส 3M ออกจากฮีทบล็อกและปล่อยให้เย็นในซิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3M อย่างน้อย 5 นาทีแต่ไม่เกิน 10 นาที
8. ดำเนินการทดสอบขั้นต่อไปในส่วน **การเพิ่มจำนวนเชื้อ** ตามรายละเอียดด้านล่าง

ข้อมูลอ้างอิง:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218 Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

คำอธิบายสัญลักษณ์

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

제품 설명서

병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2

제품 설명 및 용도

3M™ 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2는 3M™ 분자 검출 시스템을 사용하여 증균된 식품 및 사료 시료에서 병원성대장균(O157:H7 포함)을 신속하고 명확하게 검출합니다.

3M 분자 검출 키트는 높은 특이성과 민감도로 핵산 염기 서열을 빠르게 증폭시키기 위해, 생체발광 검출이 결합된 LAMP 등은 증폭 방식을 사용합니다. 추정 양성 결과는 실시간으로 보고되는 반면, 음성 결과는 시험이 완료된 후 표시됩니다. 추정 양성 결과는 원하는 방법을 사용하거나 현지 규정에 지정된 대로 확정되어야 합니다^(1, 2, 3).

3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2는 실험 기법에 대해 적절한 교육을 받은 전문가들이 실험실 환경에서 사용하도록 고안되었습니다. 3M은 식품이나 음료가 아닌 다른 산업에서의 이 제품 사용을 문서화하지 않았습니다. 즉, 3M은 환경, 약품, 화장품, 임상 또는 수의학 시료 시험에 대해서는 이 제품을 문서화하지 않았습니다. 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2는 가능한 모든 식품 완제품, 식품 공정, 시험 프로토콜 또는 가능한 모든 박테리아 종에 평가되지는 않았습니다.

모든 시험 방법처럼 증균 배지의 원료, 제조법 및 특성은 결과에 영향을 미칠 수 있습니다. 시료 추출 방법, 검사 계획서, 시료 준비, 조작 및 실험 기법 또한 결과에 영향을 미칠 수 있습니다. 3M은 충분한 수의 특정 식품과 미생물 유발 시험을 이용하여 사용자의 환경에서 사용자의 기준을 충족하는지 확인하기 위해 증균 배지를 포함한 해당 방법의 평가를 권장합니다.

3M은 펩톤완충수 ISO로 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2를 평가했습니다.

3M™ 분자 검출기는 시료에 있는 유기체를 파괴하기 위한 용해 단계에서의 열처리를 거친 시료에 사용하도록 만들어 졌습니다. 용해 단계 동안 적절하게 열처리가 되지 않은 시료는 잠재적인 생물학적 위험으로 간주되므로 3M 분자 검출 에 절대로 삽입하지 마십시오.

3M Food Safety는 설계 및 제조에 관한 ISO(International Organization for Standardization) 9001 인증을 받았습니다.

3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 시험 키트에는 표 1에 설명된 바와 같이 96회 시험분이 포함되어 있습니다.

표 1. 3M 분자 검출 키트 구성요소

항목	ID	수량	내용물	설명
3M™ Lysis Solution(LS)	투명한 튜브의 분홍색 용액	96개(8개들이 튜브 12개 스트립)	튜브당 580µL의 3M Lysis Solution	랙에 꽂혀 있고 바로 사용 가능함
3M™ 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브	분홍색 튜브	96개(8개들이 튜브 12개 스트립)	동결 건조된 특정 증폭 및 검출 혼합물	사용 준비됨
예비 캡	분홍색 캡	96개(8개들이 캡 12개 스트립)		사용 준비됨
3M™ Reagent 컨트롤(RC)	투명 플립톱 튜브	16개(8개들이 개별 튜브 2개 파우치)	동결 건조된 컨트롤 DNA, 증폭 및 검출 혼합물	사용 준비됨
퀵 스타트 가이드		1		

키트에 제공되지 않은 음성 대조균은 멸균 증균 배지(예: BPW ISO)입니다. 물을 음성 대조균으로 사용하지 마십시오.

안전

사용자는 3M 분자 검출 시스템 및 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2와 관련된 지침의 안전 정보 일체를 숙지하고 따라야 합니다. 나중에 참조할 수 있도록 안전 지침을 보관하십시오.

△ 경고: 피하지 못할 경우 사망이나 심각한 부상 및/또는 재산상의 손해를 초래할 수 있는 위험 상황을 의미합니다.

주의: 피하지 못할 경우 재산상의 피해를 초래할 수 있는 잠재적으로 위험한 상황을 의미합니다.

▲ 경고

인간 또는 동물의 상태를 진단하는 데 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2를 사용해서는 안 됩니다.

사용자는 반드시 적절한 최신 시험 기법의 적용에 있어 담당 직원의 교육을 실시해야 합니다. 예: 우수 실험실 기준, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ 또는 ISO 7218⁽⁵⁾.

오염된 제품의 출고를 초래하는 위음성 결과와 관련된 위험을 줄이려면:

- 계획서를 준수하고 제품 설명서에 명시된 대로 정확하게 시험을 수행하십시오.
- 41.5±1°C로 미리 가열한 배지를 사용합니다. 배지가 시료 준비 중 배양 온도 범위 아래로 내려가지 않도록 하십시오.
- 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2를 보관할 때는 포장 및 제품 설명서에 명시된 바를 따릅니다.
- 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2는 유효 기간까지만 사용해야 합니다.
- 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2는 내부 또는 제3자에 의해 유효성이 검증된 식품, 사료 및 식품 공정 환경 샘플에 사용합니다.
- 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2에는 내부적으로 또는 제3자가 검증한 표면, 살균소독제, 프로토콜 및 박테리아 종만 사용하십시오.
- 아릴설포네이트 화합물이 포함된 Neutralizing Buffer(NB)를 함유하는 환경 시료의 경우 시험하기 전에 1:2로 희석하십시오 (시료 1을 동량의 멸균 증균 배양액 1에 넣음). Neutralizing Buffer 증균액 10µL를 3M Lysis Solution 튜브로 옮기는 방법도 있습니다. 아릴설포네이트 화합물과 함께 3M™ Neutralizing Buffer를 함유하는 3M™ 시료 채취 제품: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB 및 HS119510NB.

화학물질 및 생물학적 유해 물질 노출 관련 위험을 줄이려면:

- 교육을 받은 사람의 통제하에 적절하게 준비된 실험실에서 병원성균 시험을 수행하십시오. 배양된 증균 배지 및 장비 또는 배양된 증균 배지에 접촉한 표면에는 인체 건강에 위험을 초래할 수 있을 정도의 병원성균이 들어있을 수 있습니다.
- 시약 및 오염된 시료를 다룰 때는 적절한 보호복과 보안경 착용을 비롯하여 항상 표준 실험실 안전 방침을 준수하십시오.
- 증폭 후 증균 배지 및 Reagent 튜브의 내용물과 접촉하지 않도록 하십시오.
- 증균 시료와 관련 오염 폐기물은 현행 지역/국가/업계 표준에 따라 폐기하십시오.
- 권장 가열 온도를 초과하지 마십시오.
- 권장 가열 시간을 초과하지 마십시오.
- 적절한 교정된 온도계를 사용하여 3M™ 분자 검출 히팅 블록 인서트 온도를 확인하십시오(예: 부분 침지 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 전체 침지 온도계는 안됨). 온도계는 반드시 3M 분자 검출 히팅 블록 인서트의 지정된 장소에 놓아야 합니다.

시험을 준비하는 동안 교차 오염과 관련된 위험을 줄이려면:

- (사용자를 보호하고 뉴클레아제의 침투를 막기 위해) 항상 장갑을 착용해야 합니다.

뜨거운 액체에 노출된 경우 가능한 위험을 줄이려면:

- 권장 가열 온도를 초과하지 마십시오.
- 권장 가열 시간을 초과하지 마십시오.
- 적절한 교정된 온도계를 사용하여 3M™ 분자 검출 히팅 블록 인서트 온도를 확인하십시오(예: 부분 침지 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 전체 침지 온도계는 안됨). 온도계는 반드시 3M 분자 검출 히팅 블록 인서트의 지정된 장소에 놓아야 합니다.

주의

시험을 준비하는 동안 교차 오염과 관련된 위험을 줄이려면:

- 미세입자를 차단하는 (필터 사용) 멸균된 분자 생물학 등급의 파이펫 팁을 이용하는 것이 좋습니다.
- 각 시료 이동 시 새 파이펫 팁을 사용하십시오.
- 우수 실험실 관리기준을 적용하여 시료를 증균에서 용해 튜브로 옮기십시오. 파이펫 오염을 방지하려면 중간 분주 단계를 추가해야 할 수도 있습니다. 예를 들어 사용자는 증균된 각 시료를 멸균 튜브로 옮길 수 있습니다.
- 해당되는 경우 살균 램프가 있는 분자생물학 워크스테이션을 사용하십시오.

위양성 결과가 발생할 위험을 줄이려면:

- 증폭 후에는 절대 튜브를 열지 마십시오.
- 오염된 튜브는 항상 1~5%(v:v 물)의 가정용 표백 용액에 1시간 동안 담가두었다가 키트 준비 구역과 멀리 떨어진 위치에 폐기합니다.

폐기에 대한 추가 정보 및 현지 규정은 안전보건자료(SDS)를 참조하십시오.

구체적인 용도나 절차에 대하여 궁금한 점이 있으면 당사 웹 사이트(www.3M.com/foodsafety)를 방문하거나 현지 3M 또는 판매업체로 문의하십시오.

사용자의 책임

사용자는 제품 설명서와 정보를 숙지할 책임이 있습니다. 보다 자세한 정보는 당사의 웹사이트 www.3M.com/foodsafety를 참고하거나 현지 3M이나 영업 대리점으로 문의하십시오.

시험 방법을 선택할 때, 샘플 추출 방법, 시험 프로토콜, 샘플 준비, 취급, 시험 기법과 같은 외적 요인들이 결과에 영향을 미칠 수 있음을 인식하는 것이 중요합니다.

시험 방법이나 제품을 선택할 때 선택된 시험 방법이 사용자의 기준을 충족할 수 있도록 적합한 매트릭스와 미생물 유발 시험을 사용하여 충분한 수의 시료를 평가하는 것은 사용자의 책임입니다.

또한 사용자는 모든 시험 방법 및 결과가 고객 및 공급자의 요구사항을 충족하는지 판단할 책임이 있습니다.

다른 시험 방법과 마찬가지로 3M Food Safety 제품을 사용하여 얻은 결과가 시험된 매트릭스나 프로세스의 품질을 보장하는 것은 아닙니다.

3M에서는 다양한 식품 매트릭스 방법 평가에 도움을 드리기 위해 3M™ 분자 검출 매트릭스 컨트롤 키트를 개발했습니다. 필요한 경우 매트릭스 컨트롤(MC)을 이용하여 매트릭스가 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 결과에 영향을 미칠 수 있는지 확인할 수 있습니다. 매트릭스를 대표하는 여러 시료를 시험하십시오(예: 3M 방법을 적용하거나 원료 또는 프로세스에 변화가 있었던 신규/미지의 매트릭스를 시험하는 유효성 검증의 기간 동안, 다양한 원천에서 얻은 시료).

매트릭스는 구성이나 프로세스와 같은 내재적 성질이 있는 제품의 종류로 정의할 수 있습니다. 매트릭스 간의 차이점은 매트릭스의 처리 방법 또는 모양(예: 비살균 vs. 저온 살균, 생제품 vs. 건조제품 등)이 미치는 영향처럼 간단합니다.

보증의 한계 / 제한적 구제

개별 제품 포장의 제한적 보증 부분에 명시된 경우를 제외하고, 3M은 상품성 또는 특정 용도 적합성에 대한 보증을 포함한 어떤 명시적이거나 암묵적인 보증도 거부합니다. 3M Food Safety 제품에 결함이 있을 경우, 3M이나 그의 공식 판매업체는 자체 판단에 따라 제품을 교체하거나 구매 금액을 환불해 드립니다. 다음은 귀하의 유일한 구제 방법입니다. 제품에서 의심되는 결함이 발견되면 발견일로부터 60일 이내에 3M으로 즉시 통지하고, 제품을 3M으로 반품해야 합니다. 고객 서비스부(미국: 1-800-328-1671) 또는 3M Food Safety의 공식 대리점으로 전화하여 반품 인증(Returned Goods Authorization)을 받으십시오.

3M 책임의 제한

3M은 수익의 상실을 포함하여 어떤 직접적인, 간접적인, 특별한, 부수적인, 결과적인 손해나 손실에 대해서도 책임지지 않습니다. 법 이론에 따른 3M의 책임은 어떤 경우에도 결함이 있다고 주장된 제품의 구매 대금을 초과하지 않습니다.

보관 및 폐기

3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2를 2~8°C에서 보관하십시오. 냉동하지 마십시오. 보관 중 키트가 빛을 받지 않도록 하십시오. 키트를 열어 보고 호일 파우치가 손상되지 않았는지 확인합니다. 파우치가 손상된 경우 사용하지 마십시오. 개봉 후, 사용하지 않은 Reagent 튜브는 항상 다시 밀봉 가능한 파우치에 건조제와 함께 넣어 보관하여 건조 동결된 시약의 안정성을 유지해야 합니다. 다시 밀봉한 제품은 최대 60일 동안 2~8°C에서 보관하십시오.

유효 기간 이후에는 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2를 사용하지 마십시오. 유효 기간과 제조번호는 상자의 외부 라벨에 기입되어 있습니다. 사용하고 난 증균 배지와 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 튜브에는 잠재적으로 병원성 물질이 들어 있을 수 있습니다. 시험이 완료되면 현재 업계 표준에 따라 오염 폐기물을 폐기하십시오. 폐기에 대한 추가 정보 및 현지 규정은 안전보건자료(SDS)를 참조하십시오.

사용 지침

모든 지침을 주의 깊게 준수하십시오. 그렇지 않으면 부정확한 결과가 나올 수 있습니다.

사용자는 “설치 적격성 평가(IQ)/작동 적격성 평가(OQ) 프로토콜 및 3M 분자 검출 시스템 지침” 문서⁽⁷⁾에 명시된 대로 3M 분자 검출 시스템 작업자 적격성 평가 교육을 완료해야 합니다.

주기적으로 1~5%(v:v 물)의 가정용 표백 용액 또는 DNA 제거 용액으로 실험실 벤치와 장비(파이펫, 캡/디캡 도구 등)의 오염을 제거하십시오.

특정 요건에 관해서는 “유효성 검증 방법 관련 상세 설명” 섹션을 참조하십시오:

표 3. AOAC® Official Method of AnalysisSM 2017.01에 따른 증균 프로토콜

표 4. NF Validation 인증서 3M 01/18-05/17에 따른 증균 프로토콜

시료 증균

표 2, 3 또는 4는 식품 증균 프로토콜에 대한 안내입니다. 다른 시료 추출 프로토콜 또는 희석 비율을 검증하여 이 시험 방법이 사용자의 기준을 충족하도록 하는 것은 사용자의 책임입니다.

식품

1. 41.5±1°C로 미리 가열한 BPW ISO 증균 배지.
2. 표 2, 3, 4에 따라 증균 배지와 시료를 무균 방식으로 결합합니다. 모든 육류 및 입자가 매우 미세한 시료에 대해서는 필터 백을 사용하는 것이 좋습니다.
3. 잎채소 및 과일을 제외한 모든 매트릭스를 2±0.2분간 혼합 혹은 스토마킹하거나 손으로 충분히 혼합하여 균질화합니다. 표 2, 3, 4에 따라 적절한 시간 동안 41.5±1°C에서 배양합니다.

표 2. 일반 증균 프로토콜

시료 매트릭스 ^(a)	시료 크기	증균 배양액량(mL)	증균 온도 (±1°C)	증균 시간(hr)
생소고기(간 것/다진 것 및 다듬은 것 포함)	325g	975 BPW ISO (미리 가열됨)	41.5	10~18
날고기(소고기, 돼지고기, 가금류, 양고기, 사슴 고기 날것 포함)	25g	225 BPW ISO (미리 가열)	41.5	8~18
잎채소 ^(b)	200g	450 BPW ISO (미리 가열)	41.5	18~24
과일 ^(b) , 채소, 과일/채소 주스, 신선한 허브, 해산물 날것, 생계란, 생우유, 쿠키 반죽 및 가공 육류를 포함한 기타 식품	25g	225 BPW ISO (미리 가열)	41.5	18~24
호두 및 호두를 포함한 견과류 믹스(이 프로토콜은 피칸, 아몬드, 피스타치오, 캐슈넛과 밤을 비롯한 기타 견과류에도 적합합니다)	25g	225 물에 탄 무지방 건조 우유	41.5	18~24

(a) 증균 배양액을 추가하기 전 냉동된 시료를 4~8°C까지 온도 평형을 맞춥니다.

(b) 잎채소 및 과일 시료는 5분간 손으로 부드럽게 저어야 합니다. 혼합하거나 스토마킹하지 마십시오.

검증 방법 관련 상세 설명

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

AOAC Official Method of AnalysisSM 프로그램에서 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2가 병원성대장균용(O157:H7)의 검출에 효과적인 방법이라는 것이 밝혀졌습니다. 이 연구에서 실험된 매트릭스는 표 3에 나와 있습니다.

표 3. AOAC® Official MethodsSM 2017.01에 따라 41.5±1°C에서 미리 가열된 BPW ISO를 사용한 증균 프로토콜

시료 매트릭스	시료 크기	증균 배양액량(mL)	증균 시간(hr)	균질화됨
생소고기(73% 살코기)	325g	975	10~18	손으로 직접 또는 스토마킹
포장된 생시금치 ^(a)	200g	450	18~24	5분 동안 손으로 부드럽게 젓고, 균질화하지 마십시오
새순	25g	225	18~24	5분 동안 손으로 부드럽게 젓고, 균질화하지 마십시오
냉동 블루베리 ^{(a)(b)}	25g	225	18~24	5분 동안 손으로 부드럽게 젓고, 균질화하지 마십시오

(a) 잎채소 및 과일 시료는 5분간 손으로 부드럽게 저어야 합니다. 혼합하거나 스토마킹하지 마십시오.

(b) 냉동된 시료는 증균 배양액을 추가하기 전 4~8°C까지 온도 평형을 맞춥니다.

AFNOR Certification에 의한 NF Validation



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

유효 기간과 관련한 상세 정보는 상기에 명시한 웹 사이트에 있는 NF Validation 인증서를 참고하십시오.

ISO 16654⁽³⁾ 대비 ISO 16140-2⁽⁶⁾에 준한 NF Validation 인증 방법

유효성 검증의 범위: 생소고기, 생 유제품, 생과일 및 채소

시료 준비: 시료는 EN ISO 16654 및 EN ISO 6887⁽⁶⁾에 따라 준비해야 합니다

소프트웨어 버전: 인증서 참고

표 4. NF Validation 인증 방법 3M 01/18-05/17에 따라 41.5±1°C에서 미리 가열된 BPW ISO를 사용한 증균 프로토콜

프로토콜	시료 크기	증균 배양액량(mL)	증균 온도(±1°C)	증균 시간(hr)
생 유제품, 생과일 및 생채소	25g	225	41.5	18~24
생소고기	25g	225	41.5	8~24

참고:

- 25g을 초과하는 시료는 NF Validation 연구에서 시험되지 않았습니다.
- 권장 프로토콜 중단 지점은 증균 후 또는 시료 용해 후입니다. 증균 배양액 또는 시료 용해물은 최대 72시간까지 2~8°C에서 보관할 수 있습니다. 증균 배양액을 보관소에서 꺼낸 후 **용해** 섹션의 1단계부터 시험을 다시 시작하십시오. 시료 용해물을 보관소에서 꺼낸 후 **용해** 섹션의 7단계부터 시험을 다시 시작하십시오. 용해액은 -20°C에서도 보관할 수 있습니다.
- 단기 증균 프로토콜은 배양 조건에 민감하므로 프로토콜에 규정된 온도를 반드시 따라야 합니다. 배양액이 미리 가열된 수조 또는 배양기의 온도를 확인하여 증균 배양액이 필수 온도에 도달하도록 해야 합니다. 배지 사전 가열 단계 마지막부터 식품 시료의 배양 시작 사이의 지연되는 시간을 포함한 총 시료 준비 시간이 45분을 초과해서는 안 됩니다. 배양 중 환기 장치가 있는 배양기를 사용하는 것이 권장됩니다.

3M™ 분자 검출 간편 장착 트레이 준비

1. 1~5%(v:v 물) 가정용 표백 용액을 천 또는 1회용 타월에 적셔 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 닦습니다.
2. 물로 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 헹굽니다.
3. 1회용 타월을 사용하여 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 닦아서 말립니다.
4. 사용하기 전에 3M 분자 검출 간편 장착 트레이가 마른 상태인지 확인하십시오.

3M™ 분자 검출 냉각 블록 인서트 준비

3M 분자 검출 냉각 블록 인sert를 실험실 벤치 바로 위에 놓아야 합니다: 3M 분자 검출 냉각 블록 트레이를 사용하지 않습니다. 실험실 실온(20~25°C)에서 블록을 사용합니다.

3M™ 분자 검출 히팅 블록 인서트 준비

건조 이중 블록 히터 장치에 3M 분자 검출 히팅 블록 인sert를 놓습니다. 건조 블록 히터 장치를 켜고 3M 분자 검출 히팅 블록 인sert가 100±1°C를 유지할 수 있도록 합니다.

참고: 히터 장치에 따라, 3M 분자 검출 히팅 블록 인sert가 온도에 도달하는 데 약 30분이 걸릴 수 있습니다. 적절한 교정된 온도계 (예: 부분 침지 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 전체 침지 온도계는 아님)를 지정된 위치에 놓아 3M 분자 검출 히팅 블록 인sert의 온도가 100±1°C인지 확인합니다.

3M™ 분자 검출기 준비

1. 3M™ 분자 검출 소프트웨어를 실행하고 로그인합니다. 3M Food Safety 담당자에게 문의하여 이 소프트웨어가 최신 버전인지 확인하십시오.
2. 3M 분자 검출기를 켭니다.

3. 각 시료에 대한 데이터를 포함하는 실행을 만들거나 편집합니다. 자세한 내용은 3M™ 분자 검출 시스템 사용 설명서를 참조하십시오.

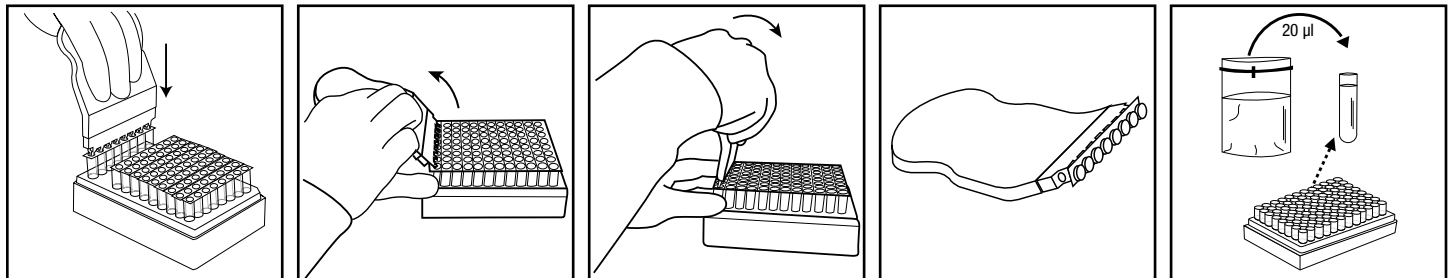
참고: 반응 튜브를 포함한 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 삽입하기 전에 3M 분자 검출기가 60°C에 도달하고 이 온도를 유지해야 합니다. 이 가열 단계는 약 20분이 걸리며 완료되면 기기의 상태 표시줄에 주황색 등이 켜집니다. 기기가 실행할 준비가 되면 상태 표시줄이 녹색으로 바뀝니다.

용해

1. 랙을 실온(20~25°C)에서 하룻밤 동안(16~18시간) 두어 3M Lysis Solution 튜브를 예열합니다. 3M Lysis Solution 튜브를 실온으로 평형시키는 또 다른 방법은 최소 2시간 동안 실험실 벤치에 3M Lysis Solution 튜브를 두거나, 37±1°C 배양기에 1시간 동안 3M Lysis Solution 튜브를 배양하거나 100°C의 건조한 이중 블록 히터에 30초간 두는 것입니다.
2. 캡을 씌운 튜브를 뒤집어 섞습니다. 4시간 이내에 다음 단계를 진행하십시오.
3. 배양기에서 증균 배양액을 꺼냅니다.
4. 각 시료와 음성 대조군(NC) 시료(멸균 증균 배지)마다 3M Lysis Solution 튜브 1개가 필요합니다.
 - 4.1 3M Lysis Solution 튜브 스트립을 원하는 3M Lysis Solution 튜브 수만큼 자를 수 있습니다. 필요한 개별 3M Lysis Solution 튜브 또는 8개들이 튜브 스트립 수를 선택합니다. 3M Lysis Solution 튜브를 빈 랙에 놓습니다.
 - 4.2 교차 오염을 방지하기 위해 한 번에 한 줄씩 3M Lysis Solution 튜브 스트립의 캡을 벗기고 각 분주 단계에 새 파이펫 팁을 사용합니다.
 - 4.3 아래 설명된 대로, 증균된 시료를 3M Lysis Solution 튜브로 옮깁니다:

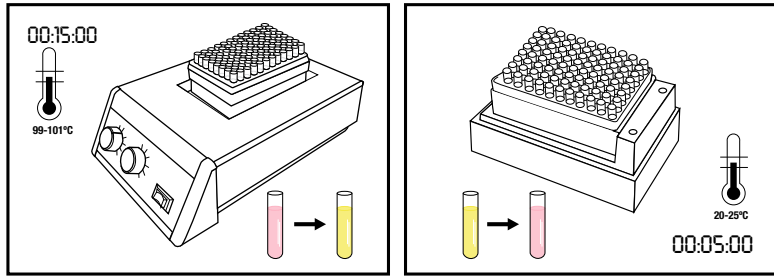
각 증균된 시료를 개별 3M Lysis Solution 튜브로 **먼저** 옮깁니다. NC를 **마지막**으로 옮깁니다.

- 4.4 3M™ 분자 검출 Lysis Cap/Decap Tool을 사용하여 한 번에 스트립 하나씩, 3M Lysis Solution 튜브 스트립 1개의 캡을 벗깁니다.
- 4.5 3M Lysis Solution 튜브 캡 폐기 - 재시험을 위해 용해물을 그대로 둘 경우 캡을 깨끗한 용기에 두어 용해 후 다시 사용할 수 있도록 합니다.
 - 4.5.1 보존된 용해물 처리에 대해서는 부록 A를 참조하십시오.
- 4.6 프로토콜 표 2, 3, 4에 별다른 표시가 없으면 20µL의 시료를 3M Lysis Solution 튜브에 옮기십시오.



5. 각 시료가 스트립의 해당 3M Lysis Solution 튜브에 모두 추가될 때까지 4.3단계를 반복합니다.
6. 시험할 시료 수에 대해, 필요한 만큼 4.1~4.6단계를 반복합니다.
7. 모든 시료를 옮겼을 때 NC(멸균 증균 배지, 예: BPW ISO) 20µL를 3M Lysis Solution 튜브로 옮깁니다. 물을 NC로 사용하지 마십시오.
8. 3M 분자 검출 히팅 블록 인서트의 온도가 100±1°C인지 확인합니다.
9. 덮개를 씌우지 않은 3M Lysis Solution 튜브의 랙을 3M 분자 검출 히팅 블록 인서트에 놓고 15±1분 동안 가열합니다. 가열 중 3M Lysis Solution은 분홍색(차가움)에서 노란색(뜨거움)으로 바뀝니다.
용해 단계 동안 적절하게 열처리가 되지 않은 시료는 잠재적인 생물학적 위험으로 간주되므로 3M 분자 검출기에 절대로 삽입하지 마십시오.
10. 덮개를 씌우지 않은 3M Lysis Solution 튜브의 랙을 히팅 블록에서 제거하고 3M 분자 검출 냉각 블록 인서트에 최소 5분, 최대 10분 냉각시킵니다. 3M 분자 냉각 블록 인서트는 3M 분자 검출 냉각 블록 트레이 없이 상온에서 바로 실험실 벤치에 놓아야 합니다. 식으면 Lysis Solution이 분홍색으로 다시 바뀝니다.

11.3M Lysis Solution 튜브의 랙을 3M 분자 검출 냉각 블록 인서트에서 제거합니다.

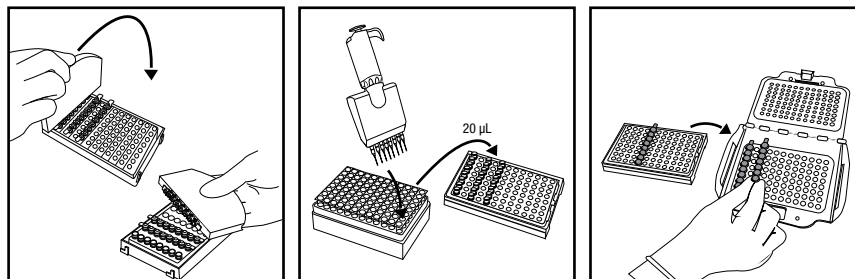


중요

1. 각 시료와 NC마다 각 1개의 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브가 필요합니다.
 - 1.1 튜브 스트립을 원하는 튜브 개수로 자를 수 있습니다. 개별 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브 또는 필요한 8개들이 튜브 스트립 수를 선택합니다.
 - 1.2 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브를 빈 랙에 놓습니다.
 - 1.3 튜브 맨 아래 시약 알갱이를 휘젓지 마십시오.
2. 하나의 3M Reagent 컨트롤 튜브를 선택하고 랙에 놓습니다.
3. 교차 오염을 방지하기 위해 한 번에 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브 스트립 1줄의 캡을 벗기고 각 분주 단계마다 새 파이펫을 사용합니다.
4. 아래 설명된 대로 용해물을 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브 및 3M Reagent 컨트롤 튜브로 옮깁니다:

각 시료 용해물을 개별 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브로 **먼저** 옮긴 뒤 NC를 옮기십시오. **마지막**에 3M Reagent 컨트롤 튜브를 수화합니다.

5. 3M™ 분자 검출 Reagent Cap/Decap Tool를 사용하여 한 번에 스트립 하나씩 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브의 캡을 벗깁니다. 캡을 버리십시오.
 - 5.1 **3M Lysis Solution 튜브 용액의 상층 1/2에서 시료 용해물 20µL를 침전물이 섞이지 않도록하여 해당 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브로 옮깁니다. 알갱이가 휘저어져 섞이지 않도록 기울여 붓습니다. 위아래로 가볍게 5번을 파이펫팅하여 섞습니다.**
 - 5.2 개별 시료 용해물이 스트립의 해당 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브에 모두 추가될 때까지 5.1단계를 반복합니다.
 - 5.3 제공된 여분의 마개로 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브를 덮고, 3M 분자 검출 Reagent Cap/Decap Tool의 둥근 면을 사용하여 앞뒤로 압력을 가하여 캡이 단단히 닫혀 있는지 확인하십시오.
 - 5.4 시험할 시료 수에 대해, 필요한 만큼 5.1~5.3단계를 반복합니다.
 - 5.5 모든 시료 용해물을 옮긴 후 5.1~5.3단계를 반복하여 NC 용해물 20µL를 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브로 옮깁니다.
 - 5.6 **NC 용해물 20µL를 3M Reagent 컨트롤 튜브로 옮깁니다. 알갱이가 휘저어져 섞이지 않도록 기울여 붓습니다. 위아래로 가볍게 5번을 파이펫팅하여 섞습니다.**
6. 캡이 씌워진 튜브를 깨끗하고 오염되지 않은 3M 분자 검출 간편 장착 트레이에 내려놓습니다. 그다음 뚜껑을 닫고 잠급니다.



7. 3M 분자 검출 소프트웨어에서 구성된 실행을 검토하고 확인합니다.
8. 소프트웨어에서 시작 버튼을 클릭하고 사용할 기기를 선택합니다. 선택한 기기의 뚜껑이 자동으로 열립니다.
9. 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 3M 분자 검출기에 놓고 뚜껑을 닫으면 시험이 시작됩니다. 결과는 60분 이내에 제공되지만 양성 여부는 더 일찍 검출할 수 있습니다.

10. 시험이 완료되었으면 3M 분자 검출기에서 3M 분자 검출 간편 장착 트레이를 꺼내고 1~5%(v:v 물)의 가정용 표백 용액에 1시간 동안 담갔다가 분석 준비 영역에서 떨어진 곳에 폐기하십시오.

주의: 고차 오염으로 인한 위양성의 위험을 최소화하려면 증폭된 DNA를 함유한 Reagent 튜브를 절대 열지 마십시오. 여기에는 3M Reagent 컨트롤, 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 Reagent 튜브, 3M 매트릭스 컨트롤 튜브가 포함됩니다. 밀봉된 Reagent 튜브는 1~5%(v:v 물)의 가정용 표백 용액에 1시간 동안 담가 두었다가 키트 준비 구역과 멀리 떨어진 위치에 폐기합니다.

결과 및 해석

알고리즘은 핵산 증폭을 탐지할 때 생성되는 빛 출력 곡선을 해석합니다. 결과는 소프트웨어에 의해 자동으로 분석되고 결과에 기반하여 색상으로 구분됩니다. 양성 또는 음성 결과는 다양한 고유 곡선 매개변수의 분석으로 판별됩니다. 추정 양성 결과는 실시간으로 보고되는 반면, 음성 결과는 실행이 완료된 후 표시됩니다.

양성으로 추정되는 시료는 1차 BPW ISO 증균액에서 2차 증균액으로 이전하는 것에서 시작하여 이후 적절한 생화학적 및 혈청학적 방법으로 분리균 확인 및 플레이팅을 실시하는 등 실험실 표준 운영 절차 또는 적절한 참고 방법 확인^(1,2,3)을 통해 확인해야 합니다.

참고: 시스템과 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 증폭 시약은 "배경" RLU를 가지므로 음성 시료도 0을 기록값으로 제공하지 않습니다.

이례적인 빛 출력이 나타나는 경우, 알고리즘은 이를 “검사(Inspect)”로 분류합니다. 3M은 모든 검사 시료에 대해 분석을 반복하는 것을 권장합니다. 결과가 계속 검사인 경우, 기본 설정한 방법을 사용하거나 현지 규정에 따라 확정 시험을 진행하십시오.

결과가 불일치하는 경우(3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 사용 시 추정 양성, 상기 방법 중 한 가지로 확인 불가 및 특히 라텍스 응집 검사에 대해), 실험실은 필요 단계를 따라 취득한 결과의 유효성을 확인해야 합니다.

NF VALIDATION 인증 방법에 따른 결과 확정

NF VALIDATION의 경우 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2에서 양성으로 식별된 모든 시료는 다음 중 하나의 시험에 따라 확인해야 합니다:

방법 1: 펩톤완충수⁽³⁾ 증균액부터 ISO 16654⁽³⁾ 표준 사용.

방법 2: 다음으로 구성된 확인 방법 실행: 펩톤완충수⁽³⁾ 증균액 50µL을 세픽심 텔루르산칼륨 소르비톨 맥콘키(CT-SMAC)⁽³⁾ 한천 플레이트에 스트리킹합니다. 37°C에서 24±3시간 동안 배양합니다. 특징적인 집락을 영양 배지에 스트리킹하고 라텍스 응집 검사를 분리된 집락에 직접 수행합니다. 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2 결과가 확인되지 않으면 면역 자기 분리 단계를 수행한 후 50µL를 CT-SMAC에 스트리킹합니다.

방법 3: CT-SMAC의 분리된 집락(증류 또는 미증류)에 수행된 EN ISO 7218⁽⁵⁾ 표준에 명시된 대로 핵산 프로브 사용(방법 1 또는 2 참조). 핵산 프로브는 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2에 사용한 것과 다른 것을 사용해야 합니다.

방법 4: 3M 병원성대장균용(O157:H7 포함) 분자 검출 키트 2와 다른 원리인 기타 NF VALIDATION 인증된 방법 사용. 해당 2차 검증 방법에 대해 설명된 전체 프로토콜을 사용해야 합니다. 두 가지 방법에서 확인 시작 전의 모든 단계가 반드시 동일해야 합니다.

결과가 불일치하는 경우(대체 방식 사용 시 추정 양성, 상기 방법 중 한 가지로 확인 불가), 실험실은 필요 단계를 따라 취득한 결과의 유효성을 확인해야 합니다.

구체적인 용도나 절차에 대하여 궁금한 점이 있으면 당사 웹 사이트(www.3M.com/foodsafety)를 방문하거나 현지 3M 또는 판매업체로 문의하십시오.

부록 A. 시험 계획서 중단: 시료의 보관 및 재시험

1. 열처리된 용해물을 보관하려면 깨끗한 캡으로 용해 튜브를 다시 씩읍니다(용해 섹션 4.5 참조).
2. 증균된 시료를 보관하려면 최소한 보관 18시간 전에 배양합니다.
3. 4~8°C에서 최대 72시간 동안 보관합니다.
4. 2~3번 뒤집어서 혼합하여 보관된 시료를 증폭하도록 준비합니다.
5. 튜브의 캡을 벗깁니다.
6. 3M 분자 검출 히팅 블록 인서트에 혼합된 용해물 튜브를 놓고 100±1°C에서 5±1분간 가열합니다.
7. 3M Lysis Solution 튜브의 랙을 히팅 블록에서 제거하고 3M 분자 검출 냉각 블록 인서트에 최소 5분, 최대 10분 냉각시킵니다.
8. 위에서 상세히 설명한 증폭 섹션의 프로토콜을 계속합니다.

참고자료:

1. 미국 식품의약국 박테리아 분석 매뉴얼. 4A장: 설사성 병원성대장균. 2015년 11월.
2. 미국 농림부(USDA) FSIS 미생물학 실험실 가이드북 5.09. 육류 제품, 지육 및 환경 스폰지로부터 병원성대장균(O157:H7)의 검출, 분리 및 식별. 발효일: 2015년 1월 15일.
3. ISO 16654:2001 식품 및 동물 먹이의 미생물학적 시험 - 병원성대장균(O157)의 검출을 위한 수평적 방법.
4. ISO/IEC 17025. 시험 및 교정 실험실 역량에 대한 일반 요구 사항.
5. ISO 7218. 식품 및 동물 사료류의 미생물학 - 미생물학적 시험 관련 일반 규칙.
6. ISO 6887. 식품 및 동물 사료류의 미생물학 - 미생물학적 시험을 위한 시험 샘플 준비, 초기 부유 및 십진희석법.
7. 설치 적격성 평가(IQ)/작동 적격성 평가(OQ) 3M™ 분자 검출 시스템. 3M Food Safety.

기호 설명

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH
Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2

Petunjuk Produk

Deteksi Molekuler untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7)

Deskripsi Produk dan Maksud Penggunaan

Deteksi Molekuler 3M™ untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) digunakan dengan Sistem Deteksi Molekuler 3M™ untuk mendeteksi *E. coli* O157 (termasuk H7) secara cepat dan spesifik dalam sampel pakan dan makanan yang diperkaya.

Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian menggunakan amplifikasi isothermal termediasi loop untuk secara cepat menguatkan rangkaian asam nukleat dengan kekhususan dan kepekaan tinggi, dikombinasikan dengan bioluminesens untuk mendeteksi amplifikasi. Hasil yang dianggap positif dilaporkan secara aktual, sedangkan hasil yang negatif akan ditampilkan setelah pengujian selesai. Hasil yang diduga positif harus dikonfirmasi menggunakan metode pilihan atau yang sesuai dengan peraturan setempat^(1, 2, 3).

Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) ditujukan untuk penggunaan di lingkungan laboratorium oleh tenaga profesional yang menguasai teknik laboratorium. 3M tidak mendokumentasikan penggunaan produk ini dalam industri selain makanan atau minuman. Contohnya, 3M belum mendokumentasikan produk ini untuk menguji sampel lingkungan, farmasi, kosmetik, klinis, atau veterineri. Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) belum dievaluasi menggunakan semua produk makanan, pengolahan makanan, protokol pengujian, atau semua strain bakteri yang mungkin ada.

Seperti halnya semua metode uji, sumber, formulasi, dan kualitas medium pengayaan bisa memengaruhi hasil. Faktor seperti metode pengambilan sampel, protokol pengujian, penyiapan sampel, penanganan, dan teknik laboratorium juga dapat memengaruhi hasil. 3M merekomendasikan untuk melakukan evaluasi metode, termasuk medium pengayaan, dalam lingkungan pengguna dengan menggunakan sejumlah sampel yang memadai dengan uji makanan dan mikroba tertentu untuk memastikan bahwa metode memenuhi kriteria pengguna.

3M telah melakukan evaluasi terhadap Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) menggunakan ISO Air Pepton Berpenyangga.

Instrumen Deteksi Molekuler 3M™ dimaksudkan untuk digunakan pada sampel yang telah dipanaskan selama tahap pengujian lisis, yang dirancang untuk mematikan organisme yang ada di dalam sampel tersebut. Sampel yang belum dipanaskan dengan benar selama tahap pengujian lisis dapat dianggap sebagai potensi bahaya biologis dan TIDAK boleh dimasukkan ke dalam Instrumen Deteksi Molekuler 3M.

Pengujian Keamanan Makanan 3M sesuai dengan sertifikasi ISO (International Organization for Standardization) 9001 dalam hal desain dan manufaktur.

Kit uji Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) berisi 96 tes, yang diuraikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Komponen Kit Uji Deteksi Molekuler 3M

Alat	Identifikasi	Jumlah	Isi	Komentar
Larutan Lisis 3M™ (LS)	Larutan merah muda dalam tabung transparan	96 (12 strip kali 8 tabung)	580 µL Larutan Lisis 3M per tabung	Tersusun dalam rak dan siap digunakan
Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M™ untuk Pengujian 2 - <i>E. coli</i> O157 (termasuk H7)	Tabung merah muda	96 (12 strip kali 8 tabung)	Campuran amplifikasi dan deteksi spesifik terliofilisasi	Siap digunakan
Tutup tambahan	Tutup merah muda	96 (12 strip kali 8 tutup)		Siap digunakan
Kontrol Reagen 3M™ (RC)	Tabung flip-top transparan	16 (2 kantung dari 8 tabung tersendiri)	Campuran kontrol DNA, amplifikasi, dan deteksi terliofilisasi	Siap digunakan
Panduan Singkat untuk Memulai		1		

Kontrol Negatif, yang tidak disediakan dalam kit, merupakan medium pengayaan steril, yaitu BPW ISO. Jangan gunakan air sebagai Kontrol Negatif.



Keselamatan

Pengguna harus membaca, memahami, dan mematuhi semua informasi keselamatan dalam petunjuk untuk Sistem Deteksi Molekuler 3M dan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7). Simpanlah petunjuk keselamatan tersebut untuk referensi pada masa mendatang.

⚠ PERINGATAN: Menandakan situasi berbahaya, yang, apabila tidak dihindari, dapat menyebabkan kematian atau cedera serius dan/atau kerusakan harta benda.

PERHATIAN: Menandakan situasi yang berpotensi bahaya yang, apabila tidak dihindari, dapat menyebabkan kerusakan harta benda.

⚠ PERINGATAN

Jangan gunakan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) untuk mendiagnosis kondisi manusia atau hewan.

Pengguna harus melatih personelnnya mengenai penggunaan teknik pengujian yang tepat dan terkini; contohnya, Praktik Laboratorium yang Baik, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾, atau ISO 7218⁽⁵⁾.

Untuk memperkecil risiko yang timbul akibat hasil negatif palsu yang dapat menyebabkan pelepasan produk yang terkontaminasi:

- Patuhi protokol dan lakukan pengujian dengan tepat seperti yang tercantum dalam petunjuk produk.
- Gunakan media yang telah dihangatkan hingga suhu $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$. Pastikan suhu media tidak mengalami penurunan hingga di bawah rentang suhu inkubasi selama persiapan sampel.
- Simpan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) sesuai cara yang tercantum pada kemasan dan petunjuk produk.
- Selalu gunakan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) sebelum tanggal kedaluwarsa.
- Gunakan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) dalam sampel makanan, pakan dan sampel lingkungan pemrosesan makanan dan yang sudah divalidasi secara internal atau oleh pihak ketiga.
- Gunakan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) hanya dengan permukaan, sanitiser, protokol, dan strain bakteri yang telah divalidasi secara internal atau oleh pihak ketiga.
- Untuk sampel lingkungan yang berisi Penyangga Penetral dengan kompleks aril sulfonat, lakukan pelarutan 1:2 sebelum pengujian (1 bagian sampel dilarutkan dengan 1 bagian larutan/media cair pengayaan steril). Opsi lain adalah dengan memindahkan 10 μL pengayaan penyangga penetral ke dalam tabung Larutan Lisis 3M. Produk Penanganan Sampel 3MTM yang berisi Penyangga Penetral 3MTM dengan kompleks aril sulfonat: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB dan HS119510NB.

Untuk memperkecil risiko yang timbul akibat paparan terhadap bahan kimia dan bahaya biologis:

- Lakukan pengujian patogen di laboratorium yang memiliki peralatan lengkap di bawah kontrol personel yang telah terlatih. Media dan perlengkapan pengayaan terinkubasi atau permukaan yang telah bersentuhan dengan media pengayaan terinkubasi dapat mengandung patogen pada tingkat yang cukup untuk menimbulkan risiko bagi kesehatan manusia.
- Selalu patuhi praktik keselamatan standar laboratorium, termasuk memakai peralatan pelindung yang benar dan pelindung mata saat menangani reagen dan sampel yang terkontaminasi.
- Hindari kontak dengan isi media pengayaan dan tabung reagen setelah amplifikasi.
- Buang sampel yang diperkaya dan limbah terkontaminasi yang terkait sesuai dengan standar lokal/regional/nasional/industri yang berlaku.
- Jangan mengatur suhu pada alat pemanas melebihi batas yang direkomendasikan.
- Jangan melebihi waktu pemanasan yang direkomendasikan.
- Gunakan termometer yang dikalibrasi dan sesuai untuk memverifikasi suhu Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3MTM (contohnya, termometer yang dimasukkan sebagian atau termometer digital ganda, bukan termometer yang dimasukkan keseluruhan). Termometer harus ditempatkan pada lokasi yang ditentukan dalam Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan kontaminasi silang saat persiapan pengujian:

- Selalu gunakan sarung tangan (untuk melindungi pengguna dan mencegah timbulnya nuklease).

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan paparan terhadap cairan panas:

- Jangan mengatur suhu pada alat pemanas melebihi batas yang direkomendasikan.
- Jangan melebihi waktu pemanasan yang direkomendasikan.
- Gunakan termometer yang dikalibrasi dan sesuai untuk memverifikasi suhu Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3MTM (contohnya, termometer yang dimasukkan sebagian atau termometer digital ganda, bukan termometer yang dimasukkan keseluruhan). Termometer harus ditempatkan pada lokasi yang ditentukan dalam Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M.



PERHATIAN

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan kontaminasi silang saat persiapan pengujian:

- Dianjurkan menggunakan ujung pipet halang aerosol ujung runcing (berfilter) dengan derajat molekuler biologi yang steril.
- Gunakan ujung pipet yang baru setiap kali memindahkan sampel.
- Gunakan Praktik Laboratorium yang Baik untuk memindahkan sampel dari tabung pengayaan ke tabung lisis. Untuk mencegah kontaminasi pipet, pengguna dapat memilih menambahkan langkah perantara dalam proses pemindahan. Contohnya, pengguna dapat memindahkan setiap sampel yang diperkaya ke dalam tabung steril.
- Gunakan stasiun kerja biologi molekuler yang memiliki lampu germisida, jika tersedia.

Untuk memperkecil risiko yang timbul akibat hasil yang positif palsu:

- Jangan pernah membuka tabung setelah amplifikasi.
- Buang tabung yang terkontaminasi dengan merendamnya ke dalam larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) selama 1 jam dan jauhkan dari tempat persiapan pengujian.

Baca Lembar Data Keselamatan untuk informasi lain dan peraturan setempat tentang pembuangan.

Apabila Anda memiliki pertanyaan yang spesifik tentang penerapan atau prosedur, silakan kunjungi situs web kami di www.3M.com/foodsafety atau hubungi perwakilan atau distributor 3M setempat.

Tanggung Jawab Pengguna

Pengguna wajib memahami petunjuk produk dan informasi. Kunjungi situs web kami di www.3M.com/foodsafety, atau hubungi perwakilan atau distributor 3M setempat untuk mendapatkan informasi selengkapnya.

Saat memilih metode pengujian, Anda wajib mengetahui bahwa faktor eksternal, seperti metode pengambilan sampel, protokol pengujian, penyiapan sampel, penanganan, dan teknik laboratorium, dapat memengaruhi hasil pengujian.

Pengguna bertanggung jawab memilih metode atau produk pengujian untuk mengevaluasi sejumlah sampel yang memadai dengan matriks dan ketentuan mikrobial yang tepat untuk memastikan bahwa metode pengujian memenuhi kriteria pengguna.

Pengguna juga wajib menentukan bahwa semua metode dan hasil pengujian memenuhi persyaratan pelanggan dan pemasok.

Seperti halnya semua metode pengujian, hasil yang diperoleh dari penggunaan produk 3M Food Safety apa pun bukan merupakan jaminan kualitas terhadap matriks atau proses yang diuji.

Untuk membantu pelanggan mengevaluasi metode untuk berbagai matriks makanan, 3M telah mengembangkan kit Kontrol Matriks Deteksi Molekuler 3M™. Jika diperlukan, gunakan Kontrol Matriks (MC) untuk menentukan apakah matriks memengaruhi hasil Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7). Uji beberapa sampel, yang mewakili matriks, yaitu sampel yang diperoleh dari sumber yang berbeda, selama periode validasi mana pun bila mengadopsi metode 3M atau bila menguji matriks baru atau tidak dikenal atau matriks yang sudah mengalami perubahan bahan mentah atau perubahan proses.

Matriks dapat didefinisikan sebagai suatu tipe produk dengan properti intrinsik seperti komposisi dan proses. Perbedaan antara matriks bisa sama sederhananya dengan dampak yang ditimbulkan karena perbedaan tersebut dalam pemrosesan atau presentasi, contohnya mentah vs. dipasteurisasi; segar vs. dikeringkan, dll.

Batasan Garansi/Penggantian Terbatas

KECUALI SEBAGAIMANA YANG DITENTUKAN DI BAGIAN JAMINAN TERBATAS UNTUK SETIAP KEMASAN PRODUK, 3M TIDAK BERTANGGUNG JAWAB TERHADAP SEMUA GARANSI SECARA TERSURAT MAUPUN TERSIRAT, TERMASUK TETAPI TIDAK TERBATAS PADA, JAMINAN KELAYAKAN JUAL ATAU KESESUAIAN UNTUK PENGGUNAAN TERTENTU. Apabila ada Produk 3M Food Safety yang cacat, 3M atau distributor resminya, sesuai kebijakannya, akan mengganti atau mengembalikan uang senilai harga pembelian produk. Hal-hal yang disebutkan di atas merupakan sarana pemulihan hak yang tersedia bagi Anda. Anda harus segera memberitahu 3M dalam waktu enam puluh hari sejak menemukan adanya dugaan cacat pada produk dan wajib mengembalikannya kepada 3M. Silakan hubungi Layanan Pelanggan (1-800-328-1671 di A.S.) atau perwakilan resmi 3M Food Safety untuk mendapatkan Pengesahan Barang Retur.

Batasan Pertanggungjawaban 3M

3M TIDAK BERTANGGUNG JAWAB ATAS SEGALA BENTUK KEHILANGAN ATAU KERUSAKAN, BAIK KERUSAKAN SECARA LANGSUNG, TIDAK LANGSUNG, KHUSUS, INSIDENTAL, MAUPUN KONSEKUENSIAL, TERMASUK TETAPI TIDAK TERBATAS PADA HILANGNYA KEUNTUNGAN. Bagaimanapun juga, sesuai teori hukum mana pun, 3M tidak akan memberikan penggantian melebihi harga pembelian produk yang diduga cacat.

Penyimpanan dan Pembuangan

Simpan 3M Deteksi Molekuler 2 - untuk Pengujian *E. coli* O157 (termasuk H7) pada suhu 2-8°C. Jangan dibekukan. Jauhkan kit dari cahaya selama penyimpanan. Setelah membuka kit, periksa apakah kantung foil masih utuh. Jangan digunakan jika kantung tersebut rusak. Setelah dibuka, tabung reagen yang tidak digunakan harus selalu disimpan dalam kantung yang dapat direkatkan kembali dan diberi desikan untuk menjaga stabilitas reagen terliofilisasi. Simpan kantung yang telah dibuka pada suhu 2-8°C, selama tidak lebih dari 60 hari.

Jangan gunakan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) yang sudah kedaluwarsa. Tanggal kedaluwarsa dan nomor lot tercantum pada label di bagian luar kotak. Media pengayaan dan tabung Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) yang telah digunakan berpotensi mengandung bahan patogen. Setelah pengujian selesai, patuhi standar industri pembuangan limbah yang terkontaminasi yang berlaku saat ini. Baca Lembar Data Keselamatan untuk informasi lain dan peraturan setempat tentang pembuangan.

Petunjuk Penggunaan

Patuhi semua petunjuk dengan saksama. Karena jika tidak, hasilnya mungkin tidak akurat.

Pengguna harus menyelesaikan pelatihan kualifikasi operator Sistem Deteksi Molekuler 3M, sebagaimana dijelaskan dalam dokumen "Protokol dan Petunjuk Kualifikasi Pemasangan (IQ)/Kualifikasi Operasional (OQ) untuk Sistem Deteksi Molekuler 3M"⁽⁷⁾.

Secara berkala, bersihkan kontaminasi pada meja dan peralatan laboratorium (pipet, alat pembuka/penutup, dsb.) dengan larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) atau larutan penghilang DNA.

Baca Bagian "Instruksi Spesifik untuk metode tervalidasi" untuk persyaratan spesifik:

Tabel 3 untuk protokol pengayaan berdasarkan AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

Tabel 4 untuk protokol pengayaan berdasarkan sertifikat NF Validation 3M 01/18-05/17

Pengayaan Sampel

Tabel 2, 3, atau 4 berisi panduan untuk protokol pengayaan makanan. Pengguna bertanggung jawab memvalidasi protokol pengambilan sampel atau rasio pengenceran alternatif guna memastikan metode pengujian ini memenuhi kriteria pengguna.

Makanan

1. Hangatkan media pengayaan BPW ISO hingga suhu $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ sebelum penggunaan.
2. Campurkan sampel dan media pengayaan secara aseptis sesuai Tabel 2, 3, atau 4. Untuk semua sampel daging dan yang mengandung banyak partikel, disarankan untuk menggunakan kantong filter.
3. Campurkan semua matriks, kecuali dedaunan dan buah-buahan, menggunakan blender, stomacher, atau dicampur secara manual selama $2 \pm 0,2$ menit. Inkubasi pada suhu $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ selama beberapa waktu sebagaimana tercantum pada Tabel 2, 3, atau 4.

Tabel 2. Protokol pengayaan umum

Matriks Sampel ^(a)	Ukuran Sampel	Volume Larutan/Media Cair Pengayaan (mL)	Suhu Pengayaan ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Waktu Pengayaan (jam)
Daging sapi mentah, termasuk daging sapi giling dan cincang	325 g	975 BPW ISO (dihangatkan sebelumnya)	41,5	10-18
Daging mentah, termasuk daging sapi, babi, unggas, domba, dan bison	25 g	225 BPW ISO (dihangatkan sebelumnya)	41,5	8-18
Dedaunan ^(b)	200 g	450 BPW ISO (dihangatkan sebelumnya)	41,5	18-24
Makanan lain, seperti buah ^(b) , sayur, jus buah/sayur, herba segar, hidangan laut mentah, telur mentah, susu mentah, adonan kue kering, dan daging olahan	25 g	225 BPW ISO (dihangatkan sebelumnya)	41,5	18-24

Kenari atau campuran kacang-kacangan yang mengandung kenari (protokol ini dapat dipakai untuk jenis kacang-kacangan yang lain, termasuk pikan, almond, kacang pistasi, mete, dan kacang kastanya)	25 g	225 susu bubuk rekonstitusi tanpa lemak	41,5	18-24
---	------	---	------	-------

- (a) Sampel beku harus diseimbangkan pada suhu 4-8°C sebelum ditambahkan ke larutan/media cair pengayaan.
- (b) Sampel dedaunan dan buah-buahan harus diaduk pelan-pelan dengan tangan selama 5 menit. Jangan gunakan blender atau stomacher.

Instruksi Spesifik untuk Metode Tervalidasi
AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

Menurut program AOAC Official Method of AnalysisSM, Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - Pengujian *E. coli* O157 (termasuk H7) telah terbukti sebagai metode yang efektif untuk mendeteksi *E. coli* O157:H7. Matriks yang diuji dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Protokol pengayaan menggunakan BPW ISO yang telah dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 41,5 ± 1°C sesuai dengan AOAC® Official MethodsSM 2017.01

Matriks Sampel	Ukuran Sampel	Volume Larutan/ Media Cair Pengayaan (mL)	Waktu Pengayaan (jam)	Dicampur
Daging sapi giling (73% tanpa lemak)	325 g	975	10-18	Secara manual menggunakan tangan atau Stomacher
Bayam mentah kemasan ^(a)	200 g	450	18-24	Aduk pelan-pelan menggunakan tangan selama 5 menit, jangan dicampur
Kecambah segar	25 g	225	18-24	Aduk pelan-pelan menggunakan tangan selama 5 menit, jangan dicampur
Blueberry beku ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	Aduk pelan-pelan menggunakan tangan selama 5 menit, jangan dicampur

- (a) Sampel dedaunan dan buah-buahan harus diaduk pelan-pelan dengan tangan selama 5 menit. Jangan gunakan blender atau stomacher.
- (b) Sampel beku harus diseimbangkan pada suhu 4-8°C sebelum ditambahkan ke larutan/media cair pengayaan.

Známka NF Validation udělená organizací AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Untuk informasi selengkapnya mengenai berakhirnya masa berlaku, lihat sertifikat NF VALIDATION dengan mengunjungi situs web di atas.

Metode dengan sertifikasi NF VALIDATION yang memenuhi ISO 16140-2⁽⁸⁾ dibandingkan dengan ISO 16654⁽³⁾

Ruang lingkup validasi: Daging sapi mentah, produk olahan susu mentah, sayuran dan buah mentah

Persiapan sampel: Sampel harus disiapkan sesuai dengan EN ISO 16654 dan EN ISO 6887⁽⁶⁾

Versi Perangkat Lunak: Lihat sertifikat

Tabel 4. Protokol pengayaan menggunakan BPW ISO yang telah dipanaskan terlebih dahulu pada suhu $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ sesuai dengan Metode dengan sertifikasi NF VALIDATION 3M 01/18-05/17

Protokol	Ukuran Sampel	Volume Larutan/ Media Cair Pengayaan (mL)	Suhu Pengayaan ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Waktu Pengayaan (jam)
Produk olahan susu mentah, buah mentah, dan sayuran mentah	25 g	225	41,5	18-24
Daging sapi mentah	25 g	225	41,5	8-24

CATATAN:

- Pengujian sampel berukuran lebih dari 25 g belum dilakukan dalam studi NF VALIDATION.
- Titik interupsi protokol yang disarankan adalah setelah pengayaan atau setelah lisis sampel. Larutan/media cair pengayaan atau sampel lisat dapat disimpan pada suhu $2-8^\circ\text{C}$ hingga 72 jam. Setelah larutan/media cair pengayaan dikeluarkan dari tempat penyimpanan, lakukan kembali pengujian mulai dari Langkah 1 pada bagian **Lisis**. Setelah sampel lisat dikeluarkan dari tempat penyimpanan, lanjutkan kembali pengujian mulai dari Langkah 7 pada bagian **Lisis**. Lisat dapat juga disimpan pada suhu -20°C .
- Protokol pengayaan singkat rentan terpengaruh oleh kondisi inkubasi dan suhu yang disebutkan dalam protokol harus diikuti. Suhu waterbath atau inkubator tempat larutan/media cair dipanaskan sebelumnya harus diverifikasi guna memastikan agar larutan/media cair pengayaan mencapai suhu yang diperlukan. Total waktu untuk mempersiapkan sampel, termasuk jeda antara berakhirnya langkah penghangatan awal media dan dimulainya inkubasi sampel makanan, tidak boleh lebih dari 45 menit. Penggunaan inkubator berventilasi disarankan selama inkubasi.

Persiapan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M™

1. Basahi kain atau handuk sekali pakai dengan larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) dan seka Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M.
2. Bilas Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M dengan air.
3. Gunakan handuk sekali pakai untuk menyeka Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M hingga kering.
4. Pastikan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M dalam kondisi kering sebelum digunakan.

Persiapan Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M™

Tempatkan Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M langsung pada meja laboratorium: Baki Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M tidak digunakan. Gunakan blok pada suhu ruangan laboratorium ($20-25^\circ\text{C}$).

Persiapan Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M™

Letakkan Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M dalam unit pemanas blok ganda kering. Nyalakan unit pemanas blok kering dan atur suhu agar Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M dapat mencapai dan mempertahankan suhu $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

CATATAN: Tergantung pada unit pemanas, tunggu selama sekitar 30 menit hingga Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M mencapai suhu yang diinginkan. Gunakan termometer yang dikalibrasi dan sesuai (contohnya, termometer yang dimasukkan sebagian, termometer digital ganda, bukan termometer yang dimasukkan keseluruhan) yang diletakkan di lokasi yang ditentukan, lakukan verifikasi bahwa Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M berada pada $100 \pm 1^\circ\text{C}$.

Persiapan Instrumen Deteksi Molekuler 3M™

1. Buka Perangkat Lunak Deteksi Molekuler 3M™ kemudian login. Hubungi perwakilan 3M Food Safety Anda guna memastikan Anda memiliki versi perangkat lunak paling mutakhir.
2. Nyalakan Instrumen Deteksi Molekuler 3M.
3. Buat atau edit proses dengan data untuk setiap sampel. Baca Panduan Pengguna Sistem Deteksi Molekuler 3M™ untuk keterangan lengkap.

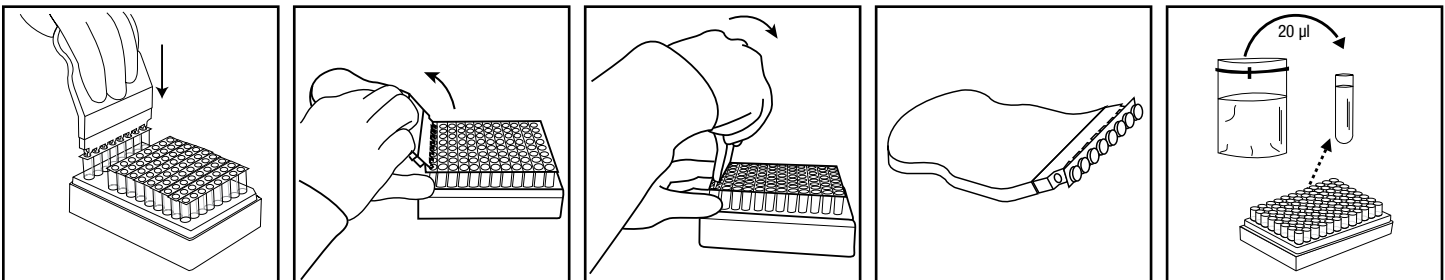
CATATAN: Instrumen Deteksi Molekuler 3M harus berada pada suhu 60°C dan tidak mengalami perubahan suhu sebelum tabung Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M dimasukkan dengan tabung reaksi. Tahap pemanasan ini berlangsung sekitar 20 menit dan ditandai dengan nyala lampu berwarna ORANYE pada bilah status instrumen. Setelah instrumen siap digunakan, bilah status akan berubah menjadi HIJAU.

Lisis

1. Panaskan tabung Larutan Lisis 3M dengan cara menyetel rak pada suhu ruangan (20-25°C) selama satu malam (16-18 jam). Cara lain yang dapat digunakan untuk menyeimbangkan tabung Larutan Lisis 3M pada suhu kamar adalah dengan meletakkan tabung Larutan Lisis 3M di meja laboratorium sedikitnya selama 2 jam, inkubasi tabung Larutan Lisis 3M dalam inkubator 37 ± 1°C selama 1 jam, atau meletakkannya di dalam pemanas blok ganda kering selama 30 detik pada suhu 100°C.
2. Balikkan tabung dalam kondisi tertutup agar isinya tercampur. Lanjutkan ke langkah berikutnya dalam waktu 4 jam.
3. Buang larutan/media cair pengayaan dari inkubator.
4. Satu tabung Larutan Lisis 3M dibutuhkan untuk setiap sampel dan sampel Kontrol Negatif (NC) (media pengayaan steril).
 - 4.1 Strip tabung Larutan Lisis 3M dapat dipotong sesuai jumlah tabung Larutan Lisis 3M yang diinginkan. Pilih jumlah tabung Larutan Lisis 3M atau strip 8 tabung yang diperlukan. Letakkan tabung Larutan Lisis 3M pada rak kosong.
 - 4.2 Untuk mencegah kontaminasi silang, buka tutup satu strip tabung Larutan Lisis 3M satu per satu dan gunakan ujung pipet baru untuk setiap tahap pemindahan.
 - 4.3 Pindahkan sampel yang diperkaya ke tabung Larutan Lisis 3M sesuai petunjuk di bawah ini:

Pindahkan setiap sampel yang diperkaya ke tabung Larutan Lisis 3M tersendiri **terlebih dulu**. NC dipindahkan **paling akhir**.

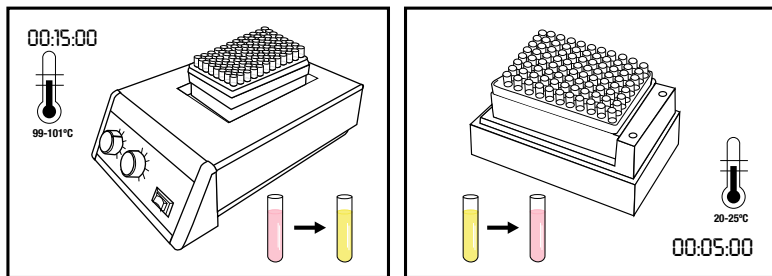
- 4.4 Gunakan Alat Penutup/Pembuka Deteksi Molekuler 3M™- Lisis untuk membuka strip tabung Larutan Lisis 3M satu per satu.
- 4.5 Buang penutup tabung Larutan Lisis 3M – Jika lisat akan disimpan untuk pengujian ulang, simpan penutup di dalam wadah bersih untuk digunakan kembali setelah lisis.
 - 4.5.1 Untuk memproses lisat yang disimpan, lihat Apendiks A.
- 4.6 Pindahkan 20 µL sampel ke dalam tabung Larutan Lisis 3M, kecuali jika disebutkan lain dalam Tabel Protokol 2, 3, dan 4.



5. Ulangi langkah 4.3 hingga setiap sampel telah ditambahkan ke dalam tabung Larutan Lisis 3M yang sesuai dalam strip.
6. Ulangi langkah 4.1 hingga 4.6 sesuai keperluan, sesuai jumlah sampel yang akan diuji.
7. Setelah selesai memindahkan semua sampel, pindahkan 20 µL NC (media pengayaan steril, contohnya BPW ISO) ke dalam tabung Larutan Lisis 3M. Jangan gunakan air sebagai NC.
8. Pastikan bahwa suhu Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M berada pada 100 ± 1°C.
9. Letakkan rak tidak tertutup berisi tabung Larutan Lisis 3M di dalam Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M lalu panaskan selama 15 ± 1 menit. Selama pemanasan, larutan Lisis 3M akan mengalami perubahan warna dari merah muda (dingin) menjadi kuning (panas).
Sampel yang belum dipanaskan dengan benar selama tahap pengujian lisis dapat dianggap sebagai potensi bahaya biologis dan TIDAK boleh dimasukkan ke dalam Instrumen Deteksi Molekuler 3M.
10. Keluarkan rak tidak tertutup berisi tabung Larutan Lisis 3M dari blok pemanasan dan biarkan hingga dingin dalam Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M selama 5 sampai 10 menit. Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M, yang digunakan pada suhu ruangan tanpa Baki Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M, harus diletakkan langsung di meja laboratorium. Ketika dingin, larutan lisis akan kembali berwarna merah muda.



11. Keluarkan rak tabung Larutan Lisis 3M dari Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M.

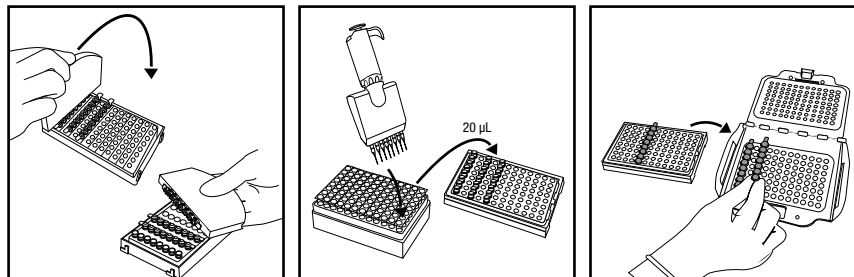


Amplifikasi

1. Setiap sampel dan NC memerlukan satu Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7).
 - 1.1 Strip tabung dapat dipotong sesuai jumlah tabung yang diinginkan. Pilih jumlah Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) atau strip 8 tabung yang dibutuhkan.
 - 1.2 Letakkan Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) di rak yang kosong.
 - 1.3 Jangan sampai mengguncang pelet reagen di bagian bawah tabung.
2. Pilih satu tabung Kontrol Reagen 3M lalu letakkan di rak.
3. Untuk mencegah kontaminasi silang, buka tutup satu strip Tabung Reagen 3M Deteksi Molekuler 2 - untuk Pengujian *E. coli* O157 (termasuk H7) satu demi satu dan gunakan ujung pipet baru untuk setiap tahap pemindahan.
4. Pindahkan lisat ke Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) dan tabung Kontrol Reagen 3M sebagaimana dijelaskan di bawah ini:

Pindahkan setiap sampel lisat ke Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) **terlebih dahulu**, dan pindahkan NC setelahnya. Basahi tabung Kontrol Reagen 3M **paling akhir**.

5. Gunakan Alat Penutup/Pembuka Deteksi Molekuler 3M™-Reagen untuk membuka Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) – strip demi strip. Buang penutup.
 - 5.1 **Pindahkan 20 µL Sampel lisat dari ½ atas cairan (hindari pengendapan) dalam tabung Larutan Lisis 3M ke dalam tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) terkait. Semprotkan dengan kemiringan tertentu sehingga tidak mengganggu pelet. Campurkan dengan cara menyedot dan menyemprotkan perlahan-lahan sebanyak 5 kali.**
 - 5.2 Ulangi langkah 5.1 sampai setiap sampel lisat telah ditambahkan ke Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) dalam strip.
 - 5.3 Tutup Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) dengan tutup tambahan yang tersedia dan gunakan sisi bulat pada Alat Penutup/Pembuka Deteksi Molekuler 3M-Reagen untuk memberikan tekanan dengan bergerak maju-mundur guna memastikan bahwa tutup sudah terpasang rapat.
 - 5.4 Ulangi langkah 5.1 hingga 5.3 sesuai kebutuhan, sesuai jumlah sampel yang akan diuji.
 - 5.5 Setelah semua sampel lisat dipindahkan, ulangi langkah 5.1 sampai 5.3 untuk memindahkan 20 µL lisat NC ke dalam Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7).
 - 5.6 **Pindahkan 20 µL of lisat NC ke dalam tabung Kontrol Reagen 3M.** Semprotkan dengan kemiringan tertentu sehingga tidak mengganggu pelet. Campurkan dengan cara menyedot dan menyemprotkan perlahan-lahan sebanyak 5 kali.
6. Masukkan tabung tertutup ke dalam Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M yang bersih dan yang telah didekontaminasi. Kemudian tutup dan segel tutup.





7. Periksa dan konfirmasi proses yang telah dikonfigurasi di Perangkat Lunak Deteksi Molekuler 3M.
8. Klik tombol Start di perangkat lunak dan pilih instrumen yang akan digunakan. Tutup instrumen yang dipilih akan membuka secara otomatis.
9. Masukkan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M ke Instrumen Deteksi Molekuler 3M dan tutup dengan rapat untuk memulai pengujian. Hasilnya akan ditampilkan setelah 60 menit, meskipun hasil positif dapat terdeteksi lebih cepat.
10. Setelah pengujian selesai, keluarkan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler 3M dari Instrumen Deteksi Molekuler 3M dan buang tabung dengan merendamnya ke dalam larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) selama 1 jam dan jauhkan dari area persiapan pengujian.

PERHATIAN: Untuk meminimalkan risiko munculnya hasil positif palsu karena kontaminasi silang, jangan membuka tabung reagen yang berisi DNA hasil amplifikasi. Ini termasuk Kontrol Reagen 3M, Tabung Reagen Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7), dan Tabung Kontrol Matriks 3M. Buang tabung reagen yang tersegel dengan merendamnya ke dalam larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) selama 1 jam dan jauhkan dari tempat persiapan pengujian.

Hasil dan Interpretasi

Terdapat suatu algoritme yang menginterpretasikan kurva keluaran cahaya yang dihasilkan dari deteksi amplifikasi asam nukleat. Hasil dianalisis secara otomatis oleh perangkat lunak dan diberi kode warna berdasarkan hasil tersebut. Hasil yang Positif atau Negatif ditentukan dari analisis sejumlah parameter kurva khusus. Hasil yang dianggap positif dilaporkan secara aktual sedangkan hasil Negatif dan Perlu Pemeriksaan akan ditampilkan setelah pengujian selesai.

Sampel yang dianggap positif harus dikonfirmasi sesuai dengan standar prosedur pengoperasian laboratorium atau dengan mematuhi konfirmasi metode rujukan yang sesuai^(1,2,3), dimulai dengan pemindahan dari pengayaan primer BPW ISO ke larutan/media cair pengayaan sekunder, dilanjutkan dengan pengusapan dan konfirmasi isolat menggunakan metode biokimia dan serologi yang sesuai.

CATATAN: Sampel yang negatif tidak akan memberikan hasil pembacaan nihil karena sistem dan reagen amplifikasi Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) memiliki pembacaan unit cahaya relatif (RLU) "latar belakang".

Meskipun jarang terjadi, jika output cahaya tidak normal, algoritme akan memberi label "Perlu Pemeriksaan". 3M menyarankan pengguna mengulang pengujian untuk sampel yang berstatus Perlu Pemeriksaan. Jika hasil tetap menunjukkan label Perlu Pemeriksaan, lanjutkan ke pengujian konfirmasi menggunakan metode yang Anda pilih atau sebagaimana ditentukan oleh peraturan setempat.

Dalam hal terjadi hasil yang tidak sesuai (dianggap positif dengan Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7), yang tidak dikonfirmasi oleh salah satu cara yang diuraikan di atas, dan terutama untuk uji penggumpalan lateks), laboratorium harus mengikuti langkah-langkah yang diperlukan untuk memastikan keabsahan hasil yang diperoleh.

Konfirmasi Hasil Sesuai dengan Metode Bersertifikasi NF VALIDATION

Dalam konteks NF VALIDATION, semua sampel yang dinyatakan positif oleh Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) harus dikonfirmasi menggunakan salah satu dari tes berikut:

Opsi 1: Menggunakan standar ISO 16654⁽³⁾ yang dimulai dari pengayaan air pepton berpenyangga⁽³⁾.

Opsi 2: Menerapkan metode konfirmasi yang terdiri dari: Pindahkan 50 µL larutan/media cair air pepton berpenyangga⁽³⁾ ke dalam pelat agar Cefixime Potassium Tellurite Sorbitol MacConkey (CT-SMAC)⁽³⁾. Inkubasi selama 24 ± 3 jam pada suhu 37°C. Pindahkan koloni karakteristik ke agar nutrisi dan lakukan tes penggumpalan lateks langsung pada koloni terisolasi. Jika hasil Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7) tidak dikonfirmasi, lakukan langkah pemisahan imunomagnetik kemudian pindahkan 50 µL ke dalam CT-SMAC.

Opsi 3: Menggunakan probe asam nukleat sebagaimana dijelaskan dalam standar EN ISO 7218⁽⁵⁾ yang dilakukan pada koloni terisolasi (murni atau tidak) dari CT-SMAC (lihat Opsi 1 atau 2). Probe asam nukleat harus berbeda dari yang digunakan pada Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7).

Opsi 4: Menggunakan metode bersertifikasi NF VALIDATION lainnya, yang prinsipnya harus berbeda dari Deteksi Molekuler 3M untuk Pengujian 2 - *E. coli* O157 (termasuk H7). Protokol lengkap yang dijelaskan untuk metode tervalidasi kedua harus dipakai. Semua langkah sebelum konfirmasi dimulai harus sama pada kedua metode.

Dalam hal terjadi hasil yang tidak sesuai (dianggap positif oleh metode alternatif, yang tidak dikonfirmasi oleh salah satu cara yang diuraikan di atas), laboratorium harus mengikuti langkah-langkah yang diperlukan untuk memastikan keabsahan hasil yang diperoleh.

Apabila Anda memiliki pertanyaan yang spesifik tentang penerapan atau prosedur, silakan kunjungi situs web kami di www.3M.com/foodsafety atau hubungi perwakilan atau distributor 3M setempat.

Apendiks A. Interupsi Protokol: Penyimpanan dan pengujian kembali sampel

1. Untuk menyimpan lisat yang dipanaskan, tutup kembali tabung lisis dengan penutup bersih (lihat bagian **Lisis**, 4.5).
2. Untuk menyimpan sampel yang diperkaya, inkubasi minimal 18 jam sebelum penyimpanan.
3. Simpan pada suhu 4 hingga 8°C sampai 72 jam.
4. Siapkan sampel yang disimpan untuk amplifikasi dengan membalik 2-3 kali agar tercampur.
5. Lepas penutup tabung.
6. Letakkan tabung lisat campuran pada Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler 3M dan panaskan pada suhu $100 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 5 ± 1 menit.
7. Keluarkan rak berisi tabung Larutan Lisis 3M dari blok pemanasan dan biarkan hingga dingin dalam Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler 3M selama 5 sampai 10 menit.
8. Lanjutkan protokol pada bagian **Amplifikasi** yang dijelaskan di atas.

Referensi:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

Penjelasan Simbol

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2