

Instrucciones del Producto

Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter*

Descripción del producto y uso previsto

El Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen® se usa junto con el Sistema de Detección Molecular Neogen® para la detección rápida y específica de *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari* y *Campylobacter coli* en muestras enriquecidas ambientales y de alimentos.

El Ensayo Detección Molecular Neogen usa amplificación isotérmica mediada por asas 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 presuntivos positivos se deben confirmar con el método que usted prefiera o según lo especifiquen las regulaciones locales^(1,2).

El Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen está previsto para el uso en laboratorios por profesionales capacitados en el empleo de técnicas de laboratorio. Neogen no documentó el uso de este producto en otras industrias que no sean la alimentaria o la de bebidas. Por ejemplo, Neogen no documentó este producto para el análisis de muestras clínicas, veterinarias, cosméticas o farmacéuticas. El Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen no ha sido evaluado con todos los productos alimenticios ni todos los procesos alimenticios, tampoco con todos los 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. Neogen 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.

Neogen ha evaluado el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen con el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen® y Caldo de enriquecimiento sin sangre Bolton.

El Equipo de Detección Molecular Neogen® 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 Neogen.

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

El kit de prueba para el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen contiene 96 pruebas, que se describen en la tabla 1.

Tabla 1. Componentes del kit para el Ensayo de Detección Molecular Neogen

Artículo	Identificación	Cantidad	Contenido	Comentarios
Solución de Lisis (LS) Neogen®	Solución rosada en tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µL de LS por tubo	En gradilla y lista para usar
Tubos de reactivos para el Ensayo Detección Molecular 2 para <i>Campylobacter</i> Neogen®	Tubos púrpura	96 (3 bolsas con 4 tiras de 8 tubos)	Mezcla de detección y amplificación específica liofilizada	Listos para usar
Tapas adicionales	Tapas púrpuras	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listos para usar
Control de Reactivos Neogen® (RC)	Tubos transparentes con tapa de bisagra	16 (2 bolsas de 8 tubos individuales)	Mezcla de detección y amplificación de control liofilizado de DNA	Listos para usar

El Control Negativo (NC), no provisto en el kit, es un medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, Caldo de Enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen. No use agua como un NC.

Puede encontrar una guía de inicio rápido en www.neogen.com

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y proceder con toda la información de seguridad incluida en las instrucciones para el Sistema de Detección Molecular Neogen y el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen. 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 Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen 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⁽³⁾, 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.
- Almacene el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen como se indica en el embalaje y en las instrucciones del producto.
- Siempre use el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen antes de su fecha de vencimiento.
- Prepare el Caldo de Enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen® según las instrucciones del producto.
- No autoclave el Caldo de Enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.
- Use el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen con muestras ambientales y de alimentos que hayan sido validadas internamente o por un tercero.
- Use el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen 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 una solución amortiguadora neutralizante con un 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 la solución amortiguadora neutralizante enriquecida a los tubos de Solución de Lisis Neogen. Productos de manejo de muestras Neogen® que incluyen una Solución Amortiguadora Neutralizante con el complejo aril sulfonato: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G y HS2410NB2G.

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 conforme a las normativas locales, regionales y nacionales vigentes y a los estándares de la industria.
- 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 Neogen.

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 Neogen® (por 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 Neogen.

ATENCIÓN

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

- Cámbiese los guantes antes de hidratar los gránulos reactivos.
- 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.
- 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 DNA.

Para reducir los riesgos relacionados con un resultado falso positivo:

- Nunca abra los tubos de reactivos 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.
- Nunca ponga en autoclave los tubos de reactivos después de la amplificación.

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.neogen.com o comuníquese con su representante o distribuidor local de Neogen.

Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones e información del producto. Visite nuestro sitio web en www.neogen.com o póngase en contacto con su representante o distribuidor local de Neogen 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, la técnica de laboratorio y la muestra en sí 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 Neogen 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, Neogen ha desarrollado el kit de Control de Matriz para Detección Molecular Neogen®. Cuando sea necesario, utilice el Control de Matriz (MC) para Detección Molecular Neogen para determinar si la matriz tiene la capacidad de impactar en los resultados del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen. 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 Neogen 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 versus pasteurizados; alimentos frescos versus 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, NEOGEN 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 Neogen Food Safety es defectuoso, Neogen 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 Neogen en un lapso de sesenta días a partir del descubrimiento de cualquier sospecha de defecto en un producto y devolver dicho producto a Neogen. Póngase en contacto con su representante de Neogen o distribuidor autorizado de Neogen para que se le responda cualquier otra pregunta.

Limitación de responsabilidad de Neogen

NEOGEN 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 Neogen conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

Almacenamiento y desecho

Siempre conserve el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen entre 2 °C-8 °C (35 °F-47 °F). 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 reselladas a una temperatura entre 2 °C-8 °C (35 °F-47 °F) durante 90 días como máximo.

No use el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen 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 Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen 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.

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 DNA.

El usuario debe completar la capacitación de calificación del operador (OQ) del Sistema de Detección Molecular Neogen según se describe en el documento "Protocolos de Calificación para la Instalación (IQ)/Calificación Operativa (OQ) e Instrucciones para el Sistema de Detección Molecular Neogen"⁽⁶⁾.

Preparación del medio

Prepare el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen® (CE250) según las instrucciones del producto.

No autoclave el medio antes de usarlo. Use el medio preparado dentro de las 24 horas posteriores a la preparación. Almacene el caldo preparado entre 2 °C-8 °C⁽⁷⁾, protegido de la luz si no lo usará inmediatamente tras la preparación. Asegúrese de que el medio esté templado entre 20 °C-30 °C antes del uso.

Recolección de muestras

El Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen no se debe usar para enjuagar aves ni como medio de transporte. Reúna y transporte las muestras de acuerdo con sus procedimientos establecidos para la toma de muestras.

Enriquecimiento de la muestra

La tabla 2 presenta una guía para los protocolos generales de enriquecimiento de muestras ambientales y 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.

Preparación de la muestra

a. Enjuague las carcasas y las piezas crudas de carne de aves

1. Enjuague la carcasa de un ave eviscerada con 400 mL de agua peptonada buferada (BPW) durante un minuto. Si enjuagara piezas de carne de ave cruda, enjuague 1,8 a 2 kg (4 lb ± 10 %) de piezas de ave con 400 mL de BPW^(1,8).
2. Para las carcasas y las piezas crudas de carne de ave, deje que el exceso de líquido se derrame antes de enjuagar la muestra para evitar transferir el exceso de líquido de procesamiento en la bolsa de muestra⁽⁸⁾.



3. Para carnes de ave que se hayan tratado con Cloruro de cetilpiridinio (CPC), si fuera necesario, añada 5 mL por cada litro de Polisorbato 80 (IUPAC: Monooleato de sorbitán polioxietilenado (20); CAS 9005-65-6) en el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen preparado. Se puede agregar Polisorbato 80 al agua antes de esterilizarlo para facilitar la disolución o se puede agregar directamente al agua estéril antes de preparar el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.
4. Transfiera asépticamente 30 mL de enjuague a una bolsa estéril y añada 30 mL de Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.

b. Esponja de carcasa

1. Las esponjas deben estar hidratadas con hasta 25 mL de BPW antes de tomar la muestra⁽¹⁾. Si transportara las muestras, asegúrese de que la bolsa esté enrollada hacia abajo y manténgala entre 2 °C-8 °C.
2. Realice el hisopado de la carcasa o tome la muestra con una esponja.
3. Coloque el hisopo en una bolsa estéril y añada 25 mL de Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen. Asegúrese de que el hisopo o la esponja queden cubiertos por el medio de enriquecimiento.

c. Productos crudos de carne de aves

1. Pese asépticamente $325 \pm 32,5$ g de muestra y colóquela en una bolsa estéril. Agregue $1625 \text{ mL} \pm 32,5 \text{ mL}$ de BPW al producto crudo de carne de ave. Para dispersar los grumos, mezcle y masajee intensamente con las manos.
2. Luego de mezclar, agregue 30 mL de la mezcla de producto crudo de carne de ave en una bolsa estéril y 30 mL del Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen, y mezcle intensamente.

d. Carne cruda y lista para consumir

1. Pese asépticamente 25 g de muestra y colóquela en una bolsa estéril. Se recomienda usar una bolsa con filtro para facilitar la toma de muestras.
2. Añada 225 mL de Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.
3. Masajee con la mano para romper cualquier grumo, evite crear burbujas durante el mezclado. No procese la bolsa con un homogeneizador peristáltico o a licuadora.

e. Hisopados de botas en la producción primaria

1. Tome la muestra con botas cubrecalzados o medias y siga los procedimientos de recolección de muestras establecidos.
2. Coloque UNA media en una bolsa estéril y añada 100 mL de Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.

f. Hisopado de arrastre

1. Tome la muestra con un dispositivo de hisopado previamente humedecido siguiendo los procedimientos de recolección de muestras establecidos.
2. Coloque el hisopo en una bolsa estéril y añada 100 mL de Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.

Incubación del enriquecimiento

1. Estire hacia abajo la bolsa para minimizar el espacio vacío y evitar la exposición del enriquecimiento al aire. Masajee suavemente la bolsa durante 10 ± 2 segundos. **No procese la bolsa con un homogeneizador peristáltico o licuadora y evite crear burbujas al mezclar.**
2. Incube la bolsa aeróbicamente a $41,5 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$, consulte la tabla 2 para conocer el tiempo de incubación adecuado.

ADVERTENCIA: Si decidiera usar una solución amortiguadora neutralizante que contenga el complejo aril sulfonato como solución hidratante para la esponja, deberá preparar una dilución 1:2 (1 parte de muestra en 1 parte de caldo de enriquecimiento estéril) de la muestra ambiental enriquecida antes de realizar la prueba para reducir los riesgos asociados con un resultado falso negativo que provoque la liberación del producto contaminado. Otra opción es transferir 10 µL de la muestra de la solución amortiguadora neutralizante enriquecida a los tubos de Solución de Lisis Neogen.

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.

Tabla 2. Protocolos Generales de Enriquecimiento.

Matriz de la muestra	Tamaño de la muestra	Caldo de enriquecimiento para <i>Campylobacter</i> Neogen (mL) ^(b)	Temperatura de enriquecimiento (±1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra (µL) ^(c)
- Enjuagues de carcasas^(a) - Enjuagues de piezas de ave^(a)	30 mL de la solución de enjuague en BPW	30	41,5	22-26	20
Esponja para carcasa^(a)	1 esponja previamente humedecida con 25 mL de BPW	25	41,5	22-26	20
- Carne cruda - Carne lista para comer	25 g	225	41,5	24-28	20
Hisopados de botas en la producción primaria	1 hisopado de botas	100	41,5	22-26	20
Hisopado de arrastre de la producción primaria	1 dispositivo prehumedecido	100	41,5	22-26	20

- (a) Si a las aves se las ha tratado con Cloruro de cetilpiridinio (CPC), es necesario añadir 5 mL por cada litro de (Polisorbato 80, IUPAC: Monooleato de sorbitán polioxietilenado (20); CAS 9005-65-6) en el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen preparado. Se puede agregar Polisorbato 80 al agua antes de esterilizarla o al agua estéril antes de preparar el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.
- (b) El Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen se debe usar dentro de 24 horas de preparación. El medio debe estar a temperatura ambiente (25 °C-30 °C) antes del uso.
- (c) Antes de tomar muestras de enriquecimiento para el análisis, masajee suavemente el fondo de la bolsa. **Después de tomar la muestra, enrolle la bolsa para evitar la exposición del enriquecimiento al aire.** Puede ser necesario tomar una muestra adicional para los pasos de reevaluación o confirmación.

Instrucciones específicas para métodos validados

AOAC® Performance TestedSM (PTM) N.º de certificado 111803



En los estudios de AOAC Research Institute y PTMSM, se descubrió que el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen era un método efectivo para la detección de *Campylobacter*. Las matrices evaluadas en el estudio se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Protocolos de enriquecimiento según AOAC PTMSM N.º de certificado 111803.

Matriz de la muestra	Tamaño de la muestra	Caldo de enriquecimiento para <i>Campylobacter</i> Neogen (mL) ^(c)	Temperatura de enriquecimiento (±1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra (µL) ^(d)
Carcasa entera enjuagada en 400 mL de BPW ^{(a) (b)}	30 mL de la solución de enjuague en BPW	30	41,5	22-26	20
Parte de ave (1,8 a 2 kg) enjuagada en 400 mL de BPW ^{(a) (b)}	30 mL de la solución de enjuague en BPW	30	41,5	22-26	20
Esponja para carcasa de pavo ^{(a) (b)}	1 esponja previamente humedecida con 25 mL de BPW	25	41,5	24-26	20
Producto de ave triturado (325 g ± 32,5 g) enjuagado en 1625 mL ± 32,5 mL de BPW ^(b)	30 mL de la mezcla de producto en BPW	30	41,5	24-28	20
Trozos de pollo empanizado	25 g	225	41,5	24-28	20

- (a) Si a las aves se las ha tratado con Cloruro de cetilpiridinio (CPC), es necesario añadir 5 mL por cada litro de (Polisorbato 80, IUPAC: Monooleato de sorbitán polioxietilenado (20); CAS 9005-65-6) en el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen preparado. Se puede agregar Polisorbato 80 al agua antes de esterilizarla o al agua estéril antes de preparar el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.
- (b) Alternativamente, esta matriz puede enriquecerse con 30 mL de 2X Caldo de enriquecimiento sin sangre Bolton (BF-BEB) durante 48 ± 2 a 42 ± 1,0 °C en condiciones microaeróbicas. Transfiera los 20 µL de muestra a una Solución de Lisis Neogen.
- (c) El Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen se debe usar dentro de 24 horas de preparación. El medio debe estar a temperatura ambiente (25 °C-30 °C) antes del uso.
- (d) Antes de tomar muestras de enriquecimiento para el análisis, masajee suavemente el fondo de la bolsa. **Después de tomar la muestra, enrolle la bolsa para evitar la exposición del enriquecimiento al aire.** Puede ser necesario tomar una muestra adicional para los pasos de reevaluación o confirmación.

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

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 Neogen.
2. Enjuague la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen con agua.
3. Utilice una toalla desechable para secar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen.
4. Antes de utilizarla, asegúrese de que la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen esté seca.

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

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

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

Coloque el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen 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 Neogen 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 Neogen alcance la temperatura deseada. Con un termómetro calibrado apropiado (por 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 Neogen se encuentre a $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

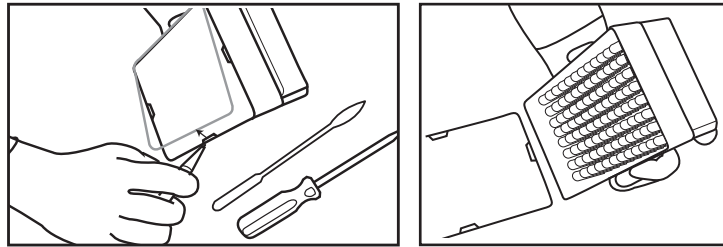
Preparación del Equipo de Detección Molecular Neogen®

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

NOTA: El Equipo de Detección Molecular Neogen debe alcanzar el estado de Listo antes de insertar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen 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 un ensayo, la barra de estado se cambiará a color VERDE.

Lisis

Retire la parte inferior de la Gradilla para Solución de Lisis de Neogen con un destornillador antes de colocarla en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen.



1. Permita que los tubos de Solución de Lisis Neogen se calienten colocando la gradilla a temperatura ambiente ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante la noche (16-18 horas). Las alternativas para que los tubos de Solución de Lisis Neogen alcancen temperatura ambiente son colocar los tubos de Solución de Lisis Neogen sobre la mesa de laboratorio durante por lo menos 2 horas, incubar los tubos de Solución de Lisis Neogen en una incubadora a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 hora o colocarlos en una unidad de calentamiento de dos bloques seca durante 30 segundos a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$.
2. Invierta los tubos tapados para mezclarlos. Proceda con el paso siguiente dentro de las 4 horas después de la inversión.
3. **Retire la muestra enriquecida de la incubadora.**
 - 3.1.1 Masajee suavemente el fondo de la bolsa de enriquecimiento antes de transferir la muestra al tubo de Solución de Lisis de Neogen.
 - 3.1.2 Puede ser necesario tomar una muestra adicional para los pasos de reevaluación o confirmación. Luego de obtener la muestra, estire hacia abajo la bolsa para minimizar el espacio vacío y evitar la exposición del enriquecimiento al aire. Si es necesario confirmar los resultados presuntivos, continúe con los pasos de confirmación tan pronto como obtenga el resultado presuntivo.
4. Se requiere un tubo de Solución de Lisis Neogen para cada muestra y la muestra NC (medio de enriquecimiento estéril).
 - 4.1 Las tiras de tubos de Solución de Lisis Neogen pueden cortarse para obtener la cantidad deseada de tubos. Seleccione la cantidad de tubos o de tiras de 8 tubos necesarias. Coloque los tubos de Solución de Lisis Neogen en una gradilla vacía.
 - 4.2 Para evitar la contaminación cruzada, destape una tira de tubo de Solución de Lisis Neogen por vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
 - 4.3 Transfiera la muestra enriquecida a los tubos de Solución de Lisis Neogen como se describe a continuación:

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

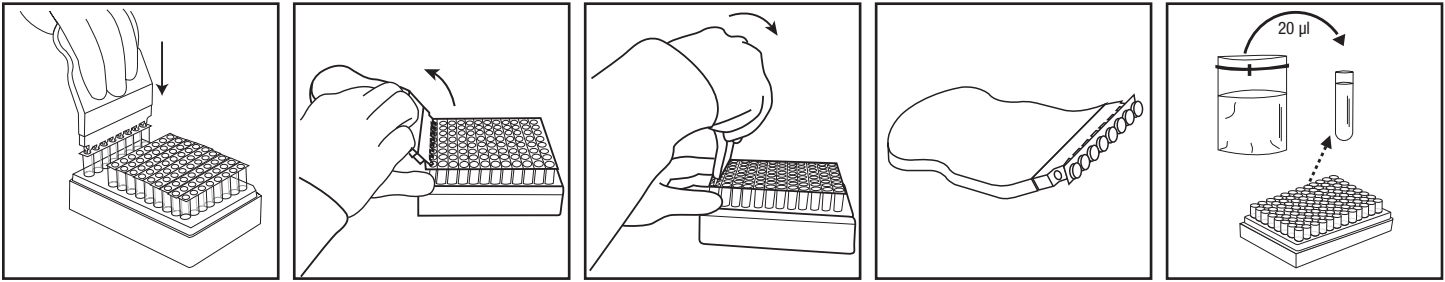
- 4.4 Utilice la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Lisis Neogen® para destapar una tira de tubos de Solución de Lisis Neogen, una tira por vez.

4.5 Deseche la tapa del tubo de Solución de Lisis Neogen; si se conservara el lisado para una repetición de prueba, coloque las tapas en un envase limpio para su re aplicación luego de la lisis.

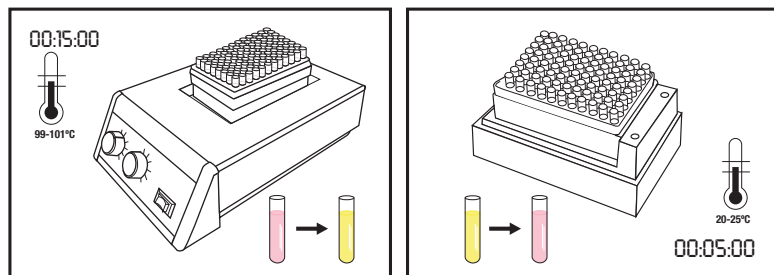
4.5.1 Para ver cómo procesar el lisado conservado, consulte el Apéndice A.

4.6 Transfiera los 20 µL de muestra a un tubo de Solución de Lisis Neogen.

5. Repita los pasos 4.4 a 4.6 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.



6. Cuando se hayan transferido todas las muestras, transfiera 20 µL del NC (medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, BPW) a un tubo de Solución de Lisis Neogen. No use agua como un NC.
7. Verifique que la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen sea de $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
8. Coloque la gradilla descubierta de tubos de Solución de Lisis Neogen en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen y caliente durante 15 ± 1 minutos. Durante el calentamiento, la Solución de Lisis Neogen cambiará de rosado (frío) a amarillo (caliente).
- 8.1 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 Neogen.
9. Retire la gradilla descubierta de tubos Solución de Lisis Neogen del Bloque de Calor para la Detección Molecular Neogen y deje que se enfríe en la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular Neogen al menos durante 5 minutos y por un máximo de 10 minutos. Cuando se usa la Inserción del Bloque de Frío del Sistema de Detección Molecular Neogen a temperatura ambiente sin la Bandeja para el Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular Neogen®, debe colocarse directamente sobre el banco de laboratorio. Cuando esté frío, la Solución de Lisis Neogen se revertirá a un color rosado.
10. Retire la gradilla de tubos de Solución de Lisis Neogen de la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular Neogen.



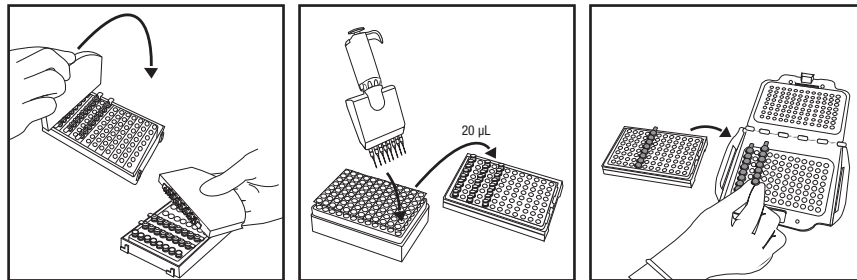
Amplificación

1. Se necesita un Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen 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 Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen o tiras de 8 tubos según sea necesario.
 - 1.2 Coloque los tubos 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 Neogen y colóquelo en la gradilla.
3. Para evitar la contaminación cruzada, destape un Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen por vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
4. Transfiera cada uno de los lisados a un Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen y a un Tubo de Control de Reactivos Neogen como se describe a continuación:

Transfiera el lisado de cada muestra a los Tubos de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen **primero**, seguido por el NC. Hidrate el Tubo de Control de Reactivos Neogen **al final**.

5. Use la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Reactivo Neogen® para destapar el Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen, 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 Neogen que corresponde al Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen. 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 Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen en la tira.
- 5.3 Cubra los Tubos de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen con las tapas adicionales provistas y utilice el lado redondeado de la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Reactivo Neogen 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 Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen.
- 5.6 Transfiera **20 µL del lisado NC a un tubo de Control de Reactivos Neogen**. 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 Neogen limpia y descontaminada. Cierre y trabe la tapa de la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen.



7. Revise y confirme la corrida configurada en el Software de Detección Molecular Neogen.
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 Neogen en el Equipo de Detección Molecular Neogen 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 Neogen del Equipo de Detección Molecular Neogen 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 DNA amplificado. Esto incluye un Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen, el Control de Reactivos Neogen y los Tubos de Control de Matriz Neogen. 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 estándares del laboratorio o mediante la confirmación del método de referencia apropiado^(1,2), comenzando con la transferencia del Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen a las placas selectivas para *Campylobacter* con incubación microaerofílica, confirmación de aislados usando métodos bioquímicos, microscópicos y serológicos adecuados apropiados. Para un mejor mantenimiento del enriquecimiento, enrolle la bolsa de enriquecimiento después de tomar una muestra.

NOTA: Incluso una muestra negativa no arrojará una lectura de cero, ya que los reactivos de amplificación del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen contienen un nivel basal de unidades relativas de luz.

En el raro caso de que se emita una señal de luz inusual, el algoritmo lo indicará como “Inspeccionar”. Neogen 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^(1,2).

Apéndice A. Interrupción por protocolo: Almacenamiento y repetición de pruebas de lisados tratados con calor

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

Referencias:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Contacte a su representante de Neogen Food Safety para obtener una copia de este documento.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Explicación de los símbolos

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

620 Leshar Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.

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

Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland



Neogen Corporation

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

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A