

VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT)

Pour contrôle microbiologique exclusivement

Basé sur la technologie de reconnaissance spécifique par phage, VIDAS[®] UP *Salmonella* est un test qualitatif automatisé sur les instruments de la famille VIDAS[®]. Ce test permet la détection des *Salmonella* dans les produits d'alimentation humaine, animale et les échantillons d'environnement de production.

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

Salmonella est l'un des principaux agents des intoxications alimentaires et sa recherche par des protocoles fastidieux peut prendre jusqu'à 5 jours pour s'assurer de son absence dans un échantillon (1). Les immuno-essais enzymatiques (EIA) basés sur des techniques de screening peuvent contribuer à accélérer et simplifier la détection.

Les *Salmonella* forment un groupe antigénique complexe avec plus de 2400 sérovars différenciés par des antigènes somatiques (O) de nature lipopolysaccharidique, et des antigènes flagellaires (H) de nature protéique (2).

Grâce à une technologie innovante basée sur des protéines recombinantes de phage, le test VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT) permet la détection spécifique des *Salmonella* dans les produits d'alimentation humaine, animale et les échantillons d'environnement de production. Il permet la détection des souches mobiles et immobiles de *Salmonella*.

PRINCIPE

VIDAS[®] SPT est un test immunoenzymatique permettant la détection d'antigènes de *Salmonella* par la méthode ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) grâce à l'instrument de la famille VIDAS[®] (voir Manuel Utilisateur).

Le cône (SPR[®]) à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. L'intérieur du cône est recouvert par des protéines spécifiques d'antigènes des *Salmonella*. Les autres réactifs de la réaction ELFA sont prêts à l'emploi et sont pré-répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.

Une partie du bouillon d'enrichissement est déposée dans la cartouche. Les antigènes de *Salmonella* présents vont se fixer à l'intérieur du cône. Les éléments restés libres sont éliminés par lavage. Ensuite, les protéines conjuguées à la phosphatase alcaline sont aspirées/refoulées dans le cône et vont se fixer sur les antigènes de *Salmonella*, eux-mêmes fixés sur la paroi du cône.

De nouvelles étapes de lavage éliminent le conjugué non fixé.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombellifénone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm.

A la fin du test, les résultats sont analysés automatiquement par l'instrument qui fournit une valeur de test pour chaque échantillon. Cette valeur est comparée à des références internes (seuils) et chaque résultat est interprété (positif, négatif).

COMPOSITION DU COFFRET (60 tests)

60 cartouches SPT	STR	Prêtes à l'emploi.
60 cônes SPT	SPR	Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par des protéines spécifiques d'antigènes des <i>Salmonella</i> .
Standard SPT (1 x 6 ml)	S1	Prêt à l'emploi. Antigène purifié et inactivé de <i>Salmonella</i> + conservateur + stabilisant protéique. L'intervalle de confiance est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Standard (S1) RFV Range".
Contrôle positif SPT (1 x 6 ml)	C1	Prêt à l'emploi. Antigène purifié et inactivé de <i>Salmonella</i> + conservateur + stabilisant protéique. L'intervalle de confiance est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C1 (+) Test Value Range".
Contrôle négatif (1 x 6 ml)	C2	Prêt à l'emploi. Tampon TRIS - NaCl (150 mmol/l) - Tween pH 7,6 + conservateur. La valeur maximum acceptable du test est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C2 (-) Test Value Range".
1 carte MLE (Master Lot Entry)		Spécifications des données usine nécessaires à la calibration du test : se référer au Manuel Utilisateur pour la lecture.
1 notice fournie dans le kit ou téléchargeable sur www.biomerieux.com/techlib		

Le cône

Le cône (SPR®) est sensibilisé au moment de la fabrication par des protéines spécifiques d'antigènes des *Salmonella*.

Chaque cône est identifié par le code "SPT". Utiliser uniquement le nombre de cônes nécessaire et laisser les cônes inutilisés dans leur sachet. **Refermer complètement le sachet après ouverture.**

La cartouche

La cartouche est composée de 10 puits recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée. L'étiquette comporte un code à barres reprenant principalement le code du test, le numéro de lot et la date de péremption du coffret.

Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon.

Le dernier puits est une cuvette permettant la lecture en fluorimétrie.

Les différents réactifs nécessaires à l'analyse sont contenus dans les puits intermédiaires.

Description de la cartouche SPT

Puits	Réactifs
1	Puits échantillon : déposer 0,5 ml de bouillon d'enrichissement, de standard ou de contrôle.
2	Tampon de prélavage (400 µl) : Tampon pH 7,8 + conservateur.
3 - 4 - 5 - 7- 8 - 9	Tampon de lavage (600 µl) : TRIS – NaCl (150 mmol/l) – Tween pH 7,6 + conservateur.
6	Conjugué (400 µl) : Protéines spécifiques d'antigènes des <i>Salmonella</i> marquées à la phosphatase alcaline + conservateur.
10	Cuvette de lecture avec substrat (300 µl) : 4-Méthyl-ombelliferyl phosphate (0,6 mmol/l) + diéthanolamine* (DEA) (0,62 mol/l soit 6,6%, pH 9,2) + conservateur.

*** Réactif IRRITANT :**

- **R 36** : irritant pour les yeux.

- **S 26** : en cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

Pour plus d'informations, consulter la fiche de données sécurité disponible sur demande.

REACTIFS, MATERIELS ET CONSOMMABLES NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Instrument de la famille VIDAS®
- Pipettes à usage unique et/ou micropipettes permettant la distribution des volumes appropriés
- VIDAS® Heat and Go (Réf. bioMérieux 93554 ou 93555 ou 93556 : Contacter votre représentant bioMérieux) ou bain d'eau (95-100°C) ou système équivalent
- Malaxeur type Stomacher
- Sac de type Stomacher avec filtre
- Supplément *Salmonella* (*Salmonella* SUPP) (réf. bioMérieux 42650)
- Bouillon SX2 (réf. bioMérieux 42121, 20 tubes)
- Gélose chromID™ *Salmonella* (SM2) (réf. bioMérieux 43621 ou 43629)

Les références ci dessous sont données à titre d'exemple.

- Eau peptonée tamponnée
 - poche de 3 litres (réf. bioMérieux 42629)
 - flacon de 225 ml (réf. bioMérieux 42043)
 - mini-poche de 225 ml (réf. bioMérieux 42729)
 - flacon de 90 ml (réf. bioMérieux 42042)
 - tube de 9 ml (réf. bioMérieux 42111).
- Géloses sélectives :

Exemples :

 - Gélose Hektoen (réf. bioMérieux 43111)
 - Gélose XLD (réf. bioMérieux 43563)
 - Gélose XLT4 (réf. bioMérieux 43701)
- Galerie
 - API® 20E (Réf. bioMérieux 20 100)
 - ou ID 32 E (Réf. bioMérieux 32400)
 - ou rapid ID 32 E (Réf. bioMérieux 32700)

Pour d'autres matériels et consommables spécifiques se reporter au Manuel Utilisateur de l'instrument.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour usage professionnel uniquement.**
- **Veiller à placer l'instrument dans un local destiné à l'analyse microbiologique.**
- Respecter les bonnes pratiques de laboratoire (exemple norme ISO 7218) (3)
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives au produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).
- Ne pas utiliser les cônes dont le sachet est percé.
- Ne pas utiliser de cartouches visiblement altérées (feuille aluminium ou plastique endommagé).
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Ne pas mélanger les réactifs (ou consommables) de lots différents.
- Les réactifs du coffret contiennent un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.
- Le substrat (puits 10 de la cartouche) contient un agent irritant (diéthanolamine 6,6 %). Prendre connaissance de la phrase de risque "R" et des conseils de prudence "S" cités ci-dessus.

- Les projections doivent être traitées avec un liquide détergent ou une solution d'eau de Javel contenant au moins 0,5 % d'hypochlorite de sodium. Se référer au Manuel Utilisateur pour éliminer les projections sur ou à l'intérieur de l'instrument. Ne pas autoclaver de produit javellisé.
- L'instrument doit être régulièrement nettoyé et décontaminé (se reporter au Manuel Utilisateur).

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret VIDAS® SPT à 2-8°C.
- **Ne pas congeler les réactifs.**
- **Laisser à 2-8°C les réactifs non utilisés.**
- A l'ouverture du coffret, vérifier l'intégrité et la bonne fermeture des sachets de cônes. Dans le cas contraire, ne pas utiliser les cônes.
- **Après chaque utilisation, refermer complètement le sachet avec son déshydratant pour maintenir la stabilité des cônes et replacer la totalité du coffret à 2-8°C.**
- Tous les composants non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, lorsqu'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

ECHANTILLONS (PREPARATION)

Les protocoles suivants sont recommandés. Laisser revenir à température ambiante (18-25°C) les bouillons d'enrichissement avant utilisation.

Protocole général pour tous produits d'alimentation humaine (sauf les fromages au lait cru) et animale et échantillons d'environnement de production

- Ajouter aseptiquement dans un sac de type Stomacher avec filtre :
 - X g (X ml) de l'échantillon.
 - 9X ml d'eau peptonée tamponnée.
 Pour certaines matrices, il convient de suivre les techniques de préparation spécifiques décrites dans les normes EN ISO 6887-1 à 6887-5 et EN ISO 6579 (4-9) tout en ajoutant le Supplément *Salmonella* à l'enrichissement.

Note 1 : Pour le cacao et les produits contenant du cacao, ne pas ajouter de vert brillant.

Note 2 : Pour les produits acides, l'ajout d'un indicateur coloré n'est pas recommandé.

Note 3 : Pour les échantillons d'environnement, le support de prélèvement doit être humidifié au préalable avec un diluant stérile (exemple : eau peptonée tamponnée) contenant si nécessaire un neutralisant adapté (par exemple le mélange Lécithine-Polysorbate-L.Histidine-Thiosulfate de sodium). Après prélèvement déposer le support dans un volume approprié d'eau peptonée tamponnée supplémentée (exemple : écouvillon dans 10 ml, chiffonnette dans 90 ml).

Note 4 : Les prises d'essai supérieures à 25 g n'ont pas été testées.
- Homogénéiser à l'aide d'un malaxeur de type Stomacher.

- Ajouter Y ml de Supplément *Salmonella* (Réf. 42650) correspondant à :

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{volume d'eau peptonée tamponnée (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Exemples :

- 1 ml pour 225 ml d'eau peptonée tamponnée
- 400 µl pour 90 ml d'eau peptonée tamponnée.

Note 1 : Homogénéiser le supplément, à l'aide d'un agitateur de type vortex, avant chaque utilisation.

Note 2 : Si la dilution au 1/10 en eau peptonée tamponnée est également utilisée pour le dénombrement des indicateurs de qualité, suivre les recommandations de la norme ISO 7218 (3). Tenir compte de ce prélèvement dans la pesée initiale de l'échantillon. Le prélèvement sera réalisé avant addition du Supplément *Salmonella*.

Note 3 : Le supplément peut être ajouté directement dans l'eau peptonée tamponnée dans le cas où le dénombrement des indicateurs de qualité n'est pas réalisé sur la même pesée.

- Homogénéiser manuellement le contenu du sac Stomacher.
- Incuber 18-24 heures à 41,5 ± 1°C.
- Après incubation, homogénéiser le contenu du sac Stomacher.

Dans le cas de l'utilisation de VIDAS® Heat and Go, transférer 0,5 ml du bouillon d'enrichissement dans le puits échantillon de la cartouche. Chauffer pendant 5 ± 1 minutes (voir manuel VIDAS® Heat and Go). Retirer la cartouche et la laisser refroidir pendant 10 minutes.

Note : Ne pas utiliser VIDAS® Heat and Go pour les ovoproduits et les échantillons de volailles.

Dans le cas de l'utilisation d'un bain d'eau, transférer 2-3 ml du bouillon d'enrichissement dans un tube. Le fermer. Chauffer à 95-100°C pendant 5 ± 1 minutes, refroidir le tube. Homogénéiser le bouillon chauffé et en transférer 0,5 ml dans le puits échantillon de la cartouche VIDAS®.

- Effectuer le test VIDAS®.
- Confirmer les résultats positifs.

Protocole pour les produits laitiers (dont les fromages au lait cru)

- Ajouter aseptiquement dans un sac de type Stomacher avec filtre :
 - X g (X ml) de l'échantillon.
 - 9X ml d'eau peptonée tamponnée (bouillon de pré-enrichissement).
 Pour certaines matrices, il convient de suivre les techniques de préparation spécifiques décrites dans la norme 6887-5 (8) tout en ajoutant le Supplément *Salmonella* à l'enrichissement.

Note 1 : Pour les produits acides, l'ajout d'un indicateur coloré n'est pas recommandé.

Note 2 : Les prises d'essai supérieures à 25 g n'ont pas été testées.
- Homogénéiser à l'aide d'un malaxeur de type Stomacher.

- Ajouter Y ml de Supplément *Salmonella* (Réf. 42650) correspondant à :

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{volume d'eau peptonée tamponnée (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Exemple : 1 ml pour 225 ml d'eau peptonée tamponnée.

Note 1 : Homogénéiser le supplément, à l'aide d'un agitateur de type vortex, avant chaque utilisation.

Note 2 : Si la dilution au 1/10 en eau peptonée tamponnée est également utilisée pour le dénombrement des indicateurs de qualité, suivre les recommandations de la norme ISO 7218 (3). Tenir compte de ce prélèvement dans la pesée initiale de l'échantillon. Le prélèvement sera réalisé avant addition du Supplément *Salmonella*.

Note 3 : Le supplément peut être ajouté directement dans l'eau peptonée tamponnée dans le cas où le dénombrement des indicateurs de qualité n'est pas réalisé sur la même pesée.

- Homogénéiser manuellement le contenu du sac Stomacher.
- Incuber 18-24 heures à 41,5 ± 1°C.
- Après incubation, agiter et transférer 1 ml de la suspension dans 10 ml de bouillon SX2 **préchauffé à 41,5 ± 1°C** (bouillon d'enrichissement).
- Incuber 6-8 heures à 41,5 ± 1°C.
- Après incubation, homogénéiser le bouillon d'enrichissement.

Dans le cas de l'utilisation de VIDAS® Heat and Go, transférer 0,5 ml du bouillon d'enrichissement dans le puits échantillon de la cartouche. Chauffer pendant 5 ± 1 minutes (voir manuel VIDAS® Heat and Go). Retirer la cartouche et la laisser refroidir pendant 10 minutes.

Dans le cas de l'utilisation d'un bain d'eau, transférer 1-2 ml du bouillon d'enrichissement dans un tube. Le fermer. Chauffer à 95-100°C pendant 5 ± 1 minutes, refroidir le tube. Homogénéiser le bouillon chauffé et en transférer 0,5 ml dans le puits échantillon de la cartouche VIDAS®.

- Effectuer le test VIDAS®.
- Confirmer les résultats positifs.

Confirmation des résultats positifs obtenus

Tout résultat positif obtenu avec VIDAS® SPT doit être confirmé.

La confirmation se fait à partir du bouillon d'enrichissement **non chauffé**.

- Procéder à un isolement sur une gélose sélective.
- Incuber la gélose selon les recommandations de la notice technique.
- Identifier de 1 à 5 colonies caractéristiques selon les tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification) (4).

En cas de résultats discordants (positif par la méthode alternative non confirmé par l'option décrite ci dessus), le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu.

Il est recommandé par exemple le protocole complémentaire suivant :

- Transférer 0,1 ml du bouillon d'enrichissement dans 10 ml de bouillon SX2.
- Après incubation pendant 16-24 heures à 41,5 ± 1°C, réaliser un isolement sur gélose sélective.
- Identifier de 1 à 5 colonies caractéristiques selon les tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (4).

MODE OPERATOIRE

Pour des instructions complètes, se référer au Manuel Utilisateur de l'instrument.

Saisie des données du protocole VIDAS® PTC

Lors de la première utilisation du test et **avant de lire les données MLE**, lire le(s) code(s) à barres (situé(s) en fin de notice) à l'aide du lecteur code à barres externe de l'instrument. Cette lecture permet de transférer les données du protocole VIDAS® PTC dans le logiciel de l'instrument pour sa mise à jour. Ces données ne doivent être lues que lors de la première utilisation du test.

Saisie des données MLE

Note : Lors de la première utilisation du test, saisir le protocole VIDAS® PTC (codes à barres en fin de notice) avant de lire les données MLE. Si les données MLE ont été lues avant le protocole VIDAS® PTC, relire les données MLE.

A l'ouverture d'un nouveau lot, les spécifications (ou données usine) doivent être entrées dans l'instrument à l'aide des données MLE. Si cette opération n'était pas effectuée **avant de commencer les tests**, l'instrument ne pourrait pas éditor de résultats. Ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot.

Il est possible de saisir les données MLE manuellement ou de façon automatique en fonction de l'instrument (se référer au Manuel Utilisateur).

Calibration

La calibration, à l'aide du standard fourni dans le coffret, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après entrée des spécifications du lot puis tous les 28 jours. Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et à l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.

Le standard, identifié par S1 sera analysé en **double** (voir Manuel Utilisateur). La valeur du standard doit être comprise dans les limites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fixées. Si ce n'est pas le cas : refaire une calibration.

Réalisation du test

1. **Sortir uniquement les réactifs nécessaires.**
2. Utiliser une cartouche "SPT" et un cône "SPT" pour chaque échantillon, contrôle ou standard à tester. **Vérifier que le sachet de cônes a été refermé complètement après chaque utilisation.**
3. Le test est identifié par le code "SPT" sur l'instrument. Le standard identifié obligatoirement par "S1" doit être utilisé en **double**.
Si le contrôle positif doit être testé, il sera identifié par "C1".
Si le contrôle négatif doit être testé, il sera identifié par "C2".

4. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le bouillon d'enrichissement.
Dans le cas de l'utilisation de VIDAS® Heat and Go, transférer 0,5 ml du bouillon d'enrichissement dans le puits échantillon de la cartouche. Chauffer pendant 5 ± 1 minutes (voir manuel VIDAS® Heat and Go). Retirer la cartouche et la laisser refroidir pendant 10 minutes.
Dans le cas de l'utilisation du bain d'eau, chauffer le bouillon d'enrichissement 5 ± 1 minutes à $95-100^{\circ}\text{C}$, refroidir le tube. Homogénéiser le bouillon chauffé et en transférer 0,5 ml dans le puits échantillon de la cartouche VIDAS®.
5. Si nécessaire, homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le standard et les contrôles puis distribuer **500 µl** dans le puits échantillon.
Note : Ne pas chauffer le standard et les contrôles.
6. Placer dans l'instrument les cônes et les cartouches. Vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) entre le cône et la cartouche.
7. Démarrer l'analyse (voir Manuel Utilisateur). Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'instrument. Les résultats sont obtenus en 48 minutes environ.
8. A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches de l'instrument.
9. Eliminer les cônes et cartouches utilisés dans un récipient approprié pour les déchets à risque biologique conformément à la législation locale en vigueur.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Dès le test terminé, les résultats sont analysés automatiquement par le système informatique.

L'instrument effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests.

La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône.

La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat avec l'enzyme présente dans le cône.

Le calcul de la RFV (Relative Fluorescence Value) est le résultat de la différence des deux mesures. Il apparaît sur la feuille de résultats.

La RFV obtenue pour chaque échantillon est interprétée par l'instrument de la manière suivante :

$$\text{Valeur du test} = \frac{\text{RFV échantillon}}{\text{RFV standard}}$$

Seuil et interprétation des résultats

Valeur du test	Interprétation
< 0,25	Négatif
≥ 0,25	Positif

Sont imprimés sur la feuille de résultats :

- le type de test,
- l'identification de l'échantillon,
- la date et l'heure,
- le numéro de lot et la date de péremption du coffret,
- la RFV, la valeur du test et l'interprétation des résultats pour chaque échantillon.

Un résultat avec une valeur du test inférieure à la valeur seuil indique un échantillon ne contenant pas de *Salmonella* ou contenant une concentration de *Salmonella* inférieure à la limite de détection.

Un résultat avec une valeur du test supérieure ou égale à la valeur seuil indique un échantillon contaminé avec des *Salmonella*. Dans ce cas, se reporter au paragraphe "Confirmation des résultats positifs".

Un résultat invalide peut apparaître :

- lorsque la lecture du bruit de fond est supérieure à un seuil prédéterminé (indiquant une contamination du substrat).
Dans ce cas, répéter l'essai avec le bouillon chauffé ou le réactif concerné (S1, C1 ou C2).
- lorsqu'il n'y a pas de standard enregistré pour le numéro de lot indiqué sur la cartouche.
Dans ce cas, effectuer une calibration en double avec des cartouches portant le même numéro de lot que le test invalide. Le résultat peut alors être recalculé à l'aide de ces nouveaux standards enregistrés. Voir le Manuel Utilisateur pour de plus complètes informations.

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle positif et un contrôle négatif sont inclus dans chaque coffret VIDAS® SPT.

Ces contrôles doivent être utilisés à réception de chaque nouveau lot afin de vérifier la calibration (voir paragraphe calibration).

Il est également recommandé d'utiliser ces contrôles à chaque nouvelle réception de coffrets afin de vérifier l'absence d'altération des réactifs.

Pour que l'instrument puisse vérifier la valeur des contrôles, il faut les identifier par C1 et C2.

Si la valeur des contrôles s'écartent des valeurs attendues, les résultats ne peuvent être validés.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en œuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITES DU TEST

Les performances de ce système n'ont pas été établies pour une utilisation autre que celle décrite dans la documentation, notice technique ou Manuel Utilisateur. Tout changement ou modification dans la procédure pourra avoir une incidence sur les résultats.

Attention

Le paramètre VIDAS® SPT a été évalué sur de nombreux produits. Cependant compte tenu de la diversité des produits et des procédés de fabrication, il est recommandé de vérifier que la composition des matrices testées n'altère pas la fiabilité des résultats VIDAS® SPT.

Le système VIDAS® Heat and Go a été évalué sur de nombreuses matrices alimentaires. Cependant compte tenu de la diversité des produits et des procédés de fabrication, il est recommandé lors des 1^{ers} essais de vérifier que le chauffage n'entraîne pas de coagulation ou précipitation importante dans le puits échantillon pouvant conduire à un pipetage incorrect.

PERFORMANCES

Dans le cadre d'évaluations externes, les performances suivantes ont été établies:

443 échantillons (233 négatifs, 210 positifs dont 98 naturellement contaminés) ont été testés en parallèle avec VIDAS® SPT et la méthode EN ISO 6579 (9).

- Positif supplémentaire VIDAS® SPT: 1
- Faux négatif VIDAS® SPT: 1
- Résultats concordants : 441

L'ensemble de ces résultats a été obtenu avec les milieux de culture bioMérieux.

ELIMINATION DES DECHETS

Éliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.








Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. KERR S., BALL H. J., MACKIE D.P., et al. - Diagnostic application of monoclonal antibodies to outer membrane protein for rapid detection of *Salmonella* - *Journal of Applied Bacteriology* - 1992, vol. 72, p. 302-308.
2. LE MINOR, L. - *Salmonella* lignières - In KRIEG N.R. and HOLT J.G. - *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* - Ed. Williams and Wilkins - Baltimore, MD., 1984 - vol. 1, p. 427-458
3. *Microbiologie des aliments - Exigences générales et recommandations* - ISO 7218 - 2007
4. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.* - EN ISO 6887-1 - 1999.
5. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 2 : Règles spécifiques pour la préparation des viandes et des produits carnés.* - EN ISO 6887-2 - 2004
6. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 3 : Règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche.* - EN ISO 6887-3 - 2004
7. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 4 : Règles spécifiques pour la préparation des produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche.* - EN ISO 6887-4 - 2004

8. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 5 : Règles spécifiques pour la préparation du lait et des produits laitiers* - EN ISO 6887-5 - 2010.
9. *Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.* - EN ISO 6579 - 2002.

TABLE DES SYMBOLES


Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limites de température
	Utiliser jusque
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Contenu suffisant pour "n" tests

BIOMÉRIEUX, le logo bleu, VIDAS, SPR, chromID et API sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales.

Stomacher est une marque appartenant à Seward Ltd.

Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.



 **bioMérieux SA**
 RCS LYON 673 620 399
 69280 Marcy-l'Etoile / France
 Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90
 www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
 Box 15969,
 Durham, NC 27704-0969 / USA
 Tél. (1) 919 620 20 00
 Fax (1) 919 620 22 11

VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT)

For microbiological control only

Based on the specific phage capture technology, VIDAS[®] UP *Salmonella* is an automated qualitative test for use on the VIDAS[®] family of instruments for the detection of *Salmonella* in human and animal food products, and production environmental samples.

SUMMARY AND EXPLANATION

Salmonella is one of the main causes of food poisoning. *Salmonella* detection using time-consuming protocols, can take up to 5 days to confirm a sample is negative (1). Enzyme immunoassay (EIA)-based screening techniques have the potential to simplify and accelerate this detection.

Salmonella are antigenically complex with over 2 400 serovars differentiated by somatic (O) lipopolysaccharide and flagellar (H) protein antigens (2).

Thanks to an innovative technology involving recombinant phage proteins, the VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT) assay enables the specific detection of *Salmonella* in human and animal food products and production environmental samples. Both motile and non-motile *Salmonella* can be detected.

PRINCIPLE

VIDAS[®] SPT is an enzyme immunoassay for use on the VIDAS[®] family of instruments (see User's Manual) for the detection of *Salmonella* antigens using the ELFA method (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

The Solid Phase Receptacle (SPR[®]) serves as the solid phase as well as the pipetting device. The interior of the SPR[®] is coated with proteins specific for *Salmonella* antigens. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR[®] several times.

Part of the enrichment broth is dispensed into the reagent strip. The *Salmonella* antigens present will bind to the interior of the SPR[®]. Unbound components are eliminated during the washing steps. The proteins conjugated to the alkaline phosphatase are cycled in and out of the SPR[®] and will bind to any *Salmonella* antigens, which are themselves bound to the SPR[®] wall.

A final wash step removes unbound conjugate.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR[®]. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone) the fluorescence of which is measured at 450 nm.

At the end of the assay, results are automatically analyzed by the instrument which calculates a test value for each sample. This value is then compared to internal references (thresholds) and each result is interpreted (positive, negative).

CONTENT OF THE KIT(60 tests)

60 SPT Strips	STR	Ready-to-use.
60 SPT SPR [®] s	SPR	Ready-to-use. Interior of SPR [®] s coated with proteins specific for <i>Salmonella</i> antigens.
Standard SPT (1 x 6 ml)	S1	Ready-to-use. Purified and inactivated <i>Salmonella</i> antigen + preservative + protein stabilizer. The confidence interval is indicated on the MLE card after the following mention: "Standard (S1) RFV Range".
SPT Positive Control (1 x 6 ml)	C1	Ready-to-use. Purified and inactivated <i>Salmonella</i> antigen + preservative + protein stabilizer. The confidence interval is indicated on the MLE card after the following mention: "Control C1 (+) Test Value Range".
Negative Control (1 x 6 ml)	C2	Ready-to-use. TRIS buffered saline (TBS) (150 mmol/l) - Tween pH 7.6 + preservative. The maximum acceptable value for the test is indicated on the MLE card after the following mention: "Control C2 (-) Test Value Range".
1 MLE Card (Master Lot Entry)		Specifications for the factory master calibration data required to calibrate the test: to read the MLE data, please refer to the User's Manual.
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

The SPR®

The interior of the SPR® is coated during production with proteins specific for *Salmonella* antigens. Each SPR® is identified by the "SPT" code. Only remove the required number of SPR®s from the pouch and **reseal the pouch correctly after opening.**

The Reagent Strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the SPT strip

Wells	Reagents
1	Sample well: dispense 0.5 ml of enrichment broth, standard or control.
2	Pre-wash solution (400 µl): Buffer pH 7.8 + preservative.
3 - 4 - 5 - 7- 8 - 9	Wash solution (600 µl): TRIS – NaCl (150 mmol/l) – Tween pH 7.6 + preservative.
6	Conjugate (400 µl): alkaline phosphatase-labeled proteins specific for <i>Salmonella</i> antigens + preservative.
10	Reading cuvette with substrate (300 µl): 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine* (DEA) (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + preservative.

*** IRRITANT reagent:**

- **R 36:** Irritating to eyes.
 - **S 26:** In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.
- For further information, refer to the Material Safety Data Sheet available on request.

REAGENTS, MATERIALS AND CONSUMABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- VIDAS® family instrument.
- Disposable pipettes and/or micropipettes to dispense the appropriate volumes
- VIDAS® Heat and Go (bioMérieux ref. 93554 or 93555 or 93556: Contact your bioMérieux representative) or a water-bath (95-100°C) or an equivalent system
- Stomacher-type mixer
- Stomacher-type bag with filter
- *Salmonella* Supplement (*Salmonella* SUPP) (bioMérieux ref.42650)
- SX2 Broth (bioMérieux ref. 42121, 20 tubes)
- chromID™ *Salmonella* Agar (SM2) (bioMérieux ref. 43621 or 43629)

The following references are given as a guide.

- Buffered Peptone Water
 - 3-liter bag (bioMérieux ref. 42629)
 - 225 ml bottle (bioMérieux ref. 42043)
 - 225 ml mini-bag (bioMérieux ref. 42729)
 - 90 ml bottle (bioMérieux ref. 42042)
 - 9 ml tube (bioMérieux ref. 42111).
- Selective agar:

Examples:

 - Hektoen Agar (bioMérieux ref. 43111)
 - XLD Agar (bioMérieux ref. 43563)
 - XLT4 Agar (bioMérieux ref. 43701)
- Strip
 - API® 20E (bioMérieux ref. 20 100)
 - or ID 32 E (bioMérieux ref. 32400)
 - or rapid ID 32 E (bioMérieux ref. 32700)

For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For professional use only.**
- **Place the VIDAS® instrument in a room designed for microbiological analysis.**
- Comply with Good Laboratory Practice (e.g., standard ISO 7218) (3)
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPR®s if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (diethanolamine 6.6%). Refer to the risk phrase "R" and the precautions "S" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS® SPT kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR® pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPR®s.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPR®s and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS (PREPARATION)

The following protocols are recommended.

Allow the enrichment broths to come to room temperature (18-25°C) before use.

Standard procedure for all human (excluding raw milk cheese) and animal food products and production environmental samples

- In a Stomacher-type bag with filter, aseptically place:
 - X g (X ml) of sample.
 - 9X ml of Buffered Peptone Water.

For certain matrices, it is recommended to follow the specific preparation techniques described in the standards EN ISO 6887-1 to 6887-5 and EN ISO 6579 (4-9) and to add the *Salmonella* Supplement to the enrichment.

Note 1: for cocoa and products containing cocoa, do not add brilliant green.

Note 2: for acid products, it is not recommended to add a color indicator.

Note 3: for environmental samples, the collection device should first be dampened with a sterile diluent (e.g., Buffered Peptone Water) containing a suitable neutralizing agent (e.g., Lecithin-Polysorbate-L.Histidine-Sodium thiosulfate mixture). After collection, place the device in a suitable volume of supplemented Buffered Peptone Water (e.g., swab in 10 ml, sampling pad in 90 ml).

Note 4: No test samples over 25 g were tested.
- Mix using a Stomacher-type mixer.
- Add Y ml of *Salmonella* Supplement (Ref. 42650) corresponding to:

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{volume of Buffered Peptone Water (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Examples:

- 1 ml for 225 ml of Buffered Peptone Water
- 400 µl for 90 ml of Buffered Peptone Water.

Note 1: homogenize the supplement using a vortex-type mixer, before each use.

Note 2: if the 1/10 dilution in Buffered Peptone Water is also used for the enumeration of quality indicator organisms, follow the recommendations in the standard ISO 7218 (3). Take this sampling portion into account when initially weighing the sample. Sampling should be performed before adding the *Salmonella* supplement.

Note 3: the supplement can be added directly to the Buffered Peptone Water if the enumeration of quality indicator organisms is not performed using the same test sample.

- Homogenize the contents of the Stomacher bag manually.
- Incubate for 18-24 hours at 41.5 ± 1°C.
- After incubation, homogenize the contents of the Stomacher bag.
 - If the VIDAS® Heat and Go is used, transfer 0.5 ml of the enrichment broth into the sample well on the strip. Heat for 5 ± 1 minutes (see the VIDAS® Heat and Go User's Manual). Remove the strip and leave to cool for 10 minutes.
- **Note:** Do not use the VIDAS® Heat and Go for egg products and poultry samples.
 - If a water-bath is used, transfer 2-3 ml of the enrichment broth into a tube. Seal the tube. Heat for 5 ± 1 minutes at 95-100°C. Cool the tube. Mix the boiled broth and transfer 0.5 ml into the sample well on the VIDAS® strip.
- Perform the VIDAS® assay.
- Confirm the positive results.

Procedure for dairy products (including raw milk cheese)

- In a Stomacher-type bag with filter, aseptically place:
 - X g (X ml) of sample.
 - 9X ml of Buffered Peptone Water (enrichment broth).

For certain matrices, it is recommended to follow the specific preparation techniques described in the standard EN ISO 6887-5 (8) and to add the *Salmonella* Supplement to the enrichment.

Note 1: For acidic products, it is not recommended to add a color indicator.

Note 2: No test samples over 25 g were tested.
- Mix using a Stomacher-type mixer.
- Add Y ml of *Salmonella* Supplement (Ref. 42650) corresponding to:

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{volume of Buffered Peptone Water (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Example: 1 ml for 225 ml of Buffered Peptone Water.

Note 1: homogenize the supplement using a vortex-type mixer, before each use.

Note 2: if the 1/10 dilution in Buffered Peptone Water is also used for the enumeration of quality indicator organisms, follow the recommendations in the standard ISO 7218 (3). Take this sampling portion into account when initially weighing the sample. Sampling should be performed before adding the *Salmonella* Supplement.

Note 3: the supplement can be added directly to the Buffered Peptone Water if the enumeration of quality indicator organisms is not performed using the same test sample.

- Homogenize the contents of the Stomacher bag manually.
- Incubate for 18-24 hours at 41.5 ± 1°C.
- After incubation, mix and transfer 1 ml of suspension into 10 ml of SX2 broth **pre-warmed at 41.5 ± 1°C** (enrichment broth).
- Incubate for 6-8 hours at 41.5 ± 1°C.
- After incubation, homogenize the enrichment broth.
 - If the VIDAS® Heat and Go is used, transfer 0.5 ml of the enrichment broth into the sample well on the strip. Heat for 5 ± 1 minutes (see the VIDAS® Heat and Go User's Manual). Remove the strip and leave to cool for 10 minutes.
 - If a water-bath is used, transfer 1-2 ml of the enrichment broth into a tube. Seal the tube. Heat for 5 ± 1 minutes at 95-100°C. Cool the tube. Mix the boiled broth and transfer 0.5 ml into the sample well on the VIDAS® strip.
- Perform the VIDAS® assay.
- Confirm the positive results.

Confirmation of positive results obtained

All positive results obtained with VIDAS® SPT must be confirmed.

Confirmation should be performed from the **non-boiled** enrichment broth.

- Isolate on a selective agar.
- Incubate the agar following the instructions in the package insert.
- Identify between 1 and 5 typical colonies using the conventional tests described in the methods standardized by the CEN or ISO (including the purification step) (4).

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

It is recommended, for example, to perform the following additional protocol:

- Transfer 0.1 ml of enrichment broth in 10 ml of SX2 broth.
- After incubation for 16-24 hours at 41.5 ± 1°C, isolate onto a selective agar.
- Identify between 1 and 5 typical colonies using the conventional tests described in the methods standardized by the CEN or ISO (4).

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

VIDAS® PTC protocol data entry

When using the assay for the first time, **and before reading the MLE data**, scan the bar code(s) (at the end of the package insert) using the instrument's external bar code reader. This reading will allow VIDAS® PTC protocol data to be transferred to the instrument software for its update. These data should only be read the first time the assay is used.

Master lot data entry

Note: When using the assay for the first time, enter the VIDAS® PTC protocol (bar codes at the end of the package insert) before reading the MLE data. If the MLE data have been read before the VIDAS® PTC protocol, read the MLE data again.

Before each new lot of reagents is used, specifications (or factory master calibration curve data) must be entered into the instrument using the MLE data. If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results. The master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter the MLE data manually or automatically depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 28 days. This operation provides instrument-specific calibration information and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested in **duplicate** (see User's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator.**
2. Use one "SPT" strip and one "SPT" SPR® for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPR®s have been removed.**
3. The test is identified by the "SPT" code on the instrument. The standard must be identified by "S1", and tested in **duplicate**.
If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1".
If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".
4. Homogenize the enrichment broth using a vortex-type mixer.
If the VIDAS® Heat and Go is used, transfer 0.5 ml of enrichment broth into the sample well on the strip. Heat for 5 ± 1 minutes (see the VIDAS® Heat and Go User's Manual). Remove the strip and leave to cool for 10 minutes.
If a water-bath is used, heat the enrichment broth for 5 ± 1 minutes at 95-100°C. Cool the tube. Mix the boiled broth and transfer 0.5 ml into the sample well on the VIDAS® strip.
5. If necessary, mix the standard and controls using a vortex-type mixer and then dispense **500 µl** into the sample well.
Note: Do not heat the standard and controls.
6. Insert the SPR®s and strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPR®s and the Reagent Strips match.
7. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument. The results are obtained within approximately 48 minutes.
8. After the assay is completed, remove the SPR®s and strips from the instrument.
9. Dispose of the used SPR®s and strips into an appropriate biohazard receptacle in accordance with applicable local regulations.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer.

Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested.

The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR® is introduced into the substrate.

The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR®.

The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The RFV obtained from each sample is interpreted by VIDAS® instruments as follows :

$$\text{Test Value} = \frac{\text{Sample RFV}}{\text{Standard RFV}}$$

Thresholds and Interpretations

Test Value Threshold	Interpretation
< 0.25	Negative
≥ 0.25	Positive

The printed report includes:

- the type of test performed,
- the sample identification,
- the date and time,
- the lot number and expiration date of the kit,
- the RFV, Test Value and interpreted result for each sample.

A result with a test value less than the threshold value indicates that the sample does not contain *Salmonella* or contains *Salmonella* at a concentration below the detection limit.

A result with a test value greater than or equal to the threshold value indicates a sample contaminated with *Salmonella*. In this case, refer to the corresponding section "Confirmation of positive results".

Invalid results are reported:

- when the background reading is above a pre-determined cut-off (indicating low-level substrate contamination).
In this case, repeat the assay with the heated broth or the reagent used (S1, C1 or C2).
- if there is no standard available for the lot number of the sample test strip.
In this case, run a standard in duplicate in strips with the same lot number as the invalid sample test. The sample test result can then be recalculated using the new stored standard. See the VIDAS® User's Manual for complete information.

QUALITY CONTROL

A positive control and a negative control are included in each VIDAS® SPT kit.

These controls must be performed each time a new lot of reagents is received to verify the calibration (see section "Calibration").

It is also recommended to perform the controls each time new kits are received to ensure that reagent performance has not been altered.

The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

Any change or modification in the procedure may affect the results.

Caution

The VIDAS® SPT assay has been tested on a large number of products. Given the wide variety of food products and manufacturing procedures, it is recommended to check that the composition of the matrices tested does not affect the reliability of VIDAS® SPT results.

The VIDAS® Heat and Go system has been evaluated on a large number of food matrices. Given the wide variety of food matrices and manufacturing procedures, when commissioning the system, it is recommended to verify that the heating step does not result in a substantial coagulation or precipitation of the sample in the sample well of the VIDAS® strip as this could lead to an incorrect volume of sample being taken into the SPR®.

PERFORMANCE

The following performance data were established during external evaluations:

443 samples (233 negative, 210 positive including 98 naturally contaminated) were tested simultaneously using VIDAS® SPT and the EN ISO 6579 method (9).

- Additional positive results with VIDAS® SPT: 1
- False negative VIDAS® SPT results: 1
- Concordant results: 441

The performance data were obtained using bioMérieux culture media.

USE / VALIDATION STATEMENT

Performance characteristics for the System for any use outside the labeling, package insert or operator's manual have not been established. Customer therefore acknowledges and agrees that bioMérieux, Inc. makes no claims, representations, warranties or guarantees for use of the System other than as specifically set forth in the applicable package insert and/or operator's manual. bioMérieux specifically disclaims all warranties, express or implied, of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE and disclaims all liability, whether direct, indirect or consequential, for any use other than as set forth in the applicable package insert and/or operator's manual. IN NO EVENT SHALL bioMérieux's LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO bioMérieux FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM. Customer acknowledges and agrees that it is Customer's sole and exclusive responsibility to validate the System for any such intended use, and to determine whether the System is suitable for that intended use. The performance of any validation studies, and the subsequent use of the System based on Customer's studies shall be the Customer's sole risk and responsibility.

WASTE DISPOSAL








Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. KERR S., BALL H. J., MACKIE D.P., et al. - Diagnostic application of monoclonal antibodies to outer membrane protein for rapid detection of *Salmonella* - *Journal of Applied Bacteriology* - 1992, vol. 72, p. 302-308.
2. LE MINOR, L. - *Salmonella* lignieres - In KRIEG N.R. and HOLT J.G. - *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* - Ed. Williams and Wilkins - Baltimore, MD., 1984 - vol. 1, p. 427-458
3. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations* - ISO 7218 - 2007
4. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.* - EN ISO 6887-1 - 1999.
5. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products.* - EN ISO 6887-2 - 2004
6. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products.* - EN ISO 6887-3 - 2004
7. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products* - EN ISO 6887-4 - 2004
8. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products* - EN ISO 6887-5 - 2010.
9. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.* - EN ISO 6579 - 2002.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalogue number
	Manufacturer
	Temperature limitation
	Use by
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests

WARRANTY


bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

BIOMERIEUX, the blue logo, VIDAS, SPR, chromID and API are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux SA or one of its subsidiaries.

Stomacher is a trademark belonging to Seward Ltd.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.



 **bioMérieux SA**
 RCS LYON 673 620 399
 69280 Marcy-l'Etoile / France
 Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90
 www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
 Box 15969,
 Durham, NC 27704-0969 / USA
 Tel. (1) 919 620 20 00
 Fax (1) 919 620 22 11

VIDAS® UP *Salmonella* (SPT)

Nur für die mikrobiologische Kontrolle

VIDAS® UP *Salmonella* ist ein automatisierter qualitativer Test für Geräte der VIDAS®-Familie. Der Test basiert auf einem spezifischen Phage-Capture Verfahren und ermöglicht den Nachweis von *Salmonella* in Lebensmitteln, Tierfutter und Umweltproben aus der Produktion.

EINFÜHRUNG UND TESTERKLÄRUNG

Salmonellen gehören zu den Hauptverursachern von Lebensmittelvergiftungen. Ihr Nachweis ist arbeitsintensiv und kann bis zur Bestätigung einer negativen Probe bis zu 5 Tage beanspruchen (1). Screening-Methoden auf der Basis von Enzymimmunoassays (EIA) können den Nachweis beschleunigen und vereinfachen.

Salmonellen bilden eine komplexe Antigengruppe mit mehr als 2400 Serotypen, die sich durch lipopolysaccharidartige somatische (O) Antigene und Proteinantigene der Bakteriengeißeln (H) unterscheiden (2).

Dank einer innovativen Technologie auf der Basis eines rekombinanten Phagenproteins, ermöglicht VIDAS® UP *Salmonella* (SPT) den spezifischen Nachweis von *Salmonella* in Lebensmitteln und Tierfutter sowie Umweltproben aus der Produktion. Sowohl bewegliche als auch nicht bewegliche *Salmonella* können nachgewiesen werden.

PRINZIP

VIDAS® SPT ist ein Enzymimmunoassay zum Nachweis von *Salmonella*-Antigenen mit der ELFA-Methode (Enzyme linked Fluorescent Assay). Der Test wird auf einem Gerät der VIDAS® Familie durchgeführt (siehe Benutzerhandbuch).

Der Festphasenrezeptor (SPR®) dient gleichzeitig als Festphase und Pipettiersystem. Die Innenseite des SPR® ist mit spezifischen Proteinen für *Salmonella* Antigene beschichtet. Die Testreagenzien befinden sich gebrauchsfertig in den versiegelten Reagenzienriegeln.

Alle Reaktionsschritte des Tests werden automatisch vom Gerät durchgeführt. Das Reaktionsmedium wird dabei mehrfach vom SPR® aspiriert und wieder abgegeben.

Ein Teil der Anreicherungsbouillon wird in den Reagenzienriegel gegeben. Die vorhandenen *Salmonella* Antigene binden an die Innenseite des SPR®. Nicht gebundene Bestandteile werden durch Waschschriffe entfernt. Die mit Alkalischer Phosphatase markierten Proteine werden im SPR® aspiriert und wieder abgegeben und binden an *Salmonella* Antigene, die ihrerseits an die SPR®-Innenseite gebunden sind.

In einem letzten Waschschriffe wird ungebundenes Konjugat entfernt.

Während des letzten Nachweisschrittes wird das Substrat (4-Methyl-umbelliferyl-Phosphat) im SPR® mehrfach aspiriert und wieder abgegeben. Das Enzymkonjugat katalysiert die Hydrolyse dieses Substrates in ein fluoreszierendes Produkt (4-Methyl-umbelliferon), dessen Fluoreszenz bei 450 nm gemessen wird.

Nach Beendigung des Tests werden die Ergebnisse automatisch vom Gerät analysiert. Für jede Probe wird ein Testwert errechnet, der mit gespeicherten Referenzwerten (Grenzwerten) verglichen wird. Das Ergebnis jeder Probe wird als positiv oder negativ interpretiert.

PACKUNGSGEHALT (60 Tests)

60 SPT Reagenzienriegel	STR	Gebrauchsfertig.
60 SPT SPR®s	SPR	Gebrauchsfertig. Die Innenseite der SPR®s ist mit Proteinen beschichtet, die für <i>Salmonella</i> Antigene spezifisch sind.
SPT Standard (1 x 6 ml)	S1	Gebrauchsfertig. Gereinigtes und inaktiviertes <i>Salmonella</i> Antigen + Konservierungsmittel + Proteinstabilisator. Das Konfidenzintervall ist auf der MLE Karte nach dem folgenden Vermerk: "Standard (S1) RFV Range" angegeben.
SPT Positivkontrolle (1 x 6 ml)	C1	Gebrauchsfertig. Gereinigtes und inaktiviertes <i>Salmonella</i> Antigen + Konservierungsmittel + Proteinstabilisator. Das Konfidenzintervall ist auf der MLE Karte nach dem folgenden Vermerk: "Control C1 (+) Test Value Range" angegeben.
Negativkontrolle (1 x 6 ml)	C2	Gebrauchsfertig. TRIS NaCl-Puffer (TBS) (150 mmol/l) - Tween pH 7,6 + Konservierungsmittel. Der maximal akzeptierbare Testwert ist auf der MLE Karte nach dem folgenden Vermerk: "Control C2 (-) Test Value Range" angegeben.
1 MLE Karte (Master Lot Entry)		Für die Testkalibration erforderliche Master Lot Daten. Informationen zum Einlesen der MLE-Daten finden Sie im Benutzerhandbuch.
1 Arbeitsanleitung im Kit enthalten oder als Download unter www.biomerieux.com/techlib		

Der Festphasenrezeptor

Die Innenseite des Festphasenrezeptors (SPR®) wird bei der Herstellung mit Proteinen beschichtet, die für *Salmonella* Antigene spezifisch sind.

Jeder SPR® ist mit dem Code "SPT" gekennzeichnet. Nehmen Sie nur die erforderliche Anzahl SPR® aus dem Beutel. **Nicht benötigte SPR® im Beutel lassen und diesen nach jedem Gebrauch sorgfältig verschließen.**

Der Reagenzienriegel

Der etikettierte Reagenzienriegel besteht aus 10 folienversiegelten Küvetten. Auf dem Etikett sind der Testcode, die Chargennummer und das Verfallsdatum des Kits im Barcode festgehalten. Die erste Küvette ist perforiert, um das Einpipettieren der Probe zu erleichtern. In der letzten Küvette jedes Reagenzienriegels wird die Fluoreszenzmessung durchgeführt. Die mittleren Küvetten beinhalten die verschiedenen Reagenzien, die für den Test erforderlich sind.

Beschreibung des SPT Reagenzienriegels

Küvetten	Reagenzien
1	Probenküvette: 0,5 ml Anreicherungsbouillon, Standard oder Kontrolle in diese Küvette pipettieren.
2	Vorwaschlösung (400 µl): Puffer pH 7,8 + Konservierungsmittel.
3 - 4 - 5 - 7 - 8 - 9	Waschlösung (600 µl): TRIS – NaCl (150 mmol/l) – Tween pH 7,6 + Konservierungsmittel.
6	Konjugat (400 µl): Mit Alkalischer Phosphatase markierte Proteine, die für <i>Salmonella</i> Antigene spezifisch sind + Konservierungsmittel.
10	Messküvette mit Substrat (300 µl): 4-Methyl-umbelliferyl Phosphat (0,6 mmol/l) + Diethanolamin* (DEA) (0,62 mol/l bzw. 6,6%, pH 9,2) + Konservierungsmittel.

* REIZENDES Reagenz

- **R 36:** Reizt die Augen.
 - **S 26:** Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
- Weitere Informationen entnehmen Sie dem Sicherheitsdatenblatt, das auf Anfrage erhältlich ist.

ZUSÄTZLICHE NICHT MITGELIEFERTE REAGENZIEN, MATERIALIEN UND EINWEGARTIKEL

- Gerät aus der VIDAS® Familie.
- Einweg-Pipetten und/oder Mikropipetten zum Dispensieren der entsprechenden Volumina
- VIDAS® Heat and Go (bioMérieux Best.Nr. 93554 oder 93555 oder 93556: Wenden Sie sich bitte an Ihren bioMérieux Vertriebsmitarbeiter) oder ein Wasserbad (95-100°C) oder ein gleichwertiges System
- Mixer vom Typ Stomacher
- Beutel vom Typ Stomacher mit Filter
- *Salmonella* Supplement (*Salmonella* SUPP) (bioMérieux Best.Nr. 42650)
- SX2 Bouillon (bioMérieux Best.Nr. 42121, 20 Röhrchen)
- chromID™ *Salmonella* Agar (SM2) (bioMérieux Best.Nr. 43621 oder 43629)

Die folgenden Bestellnummern sind exemplarisch aufgeführt.

- Gepuffertes Peptonwasser
 - 3-Liter Beutel (bioMérieux Best.Nr. 42629)
 - 225 ml Flasche (bioMérieux Best.Nr. 42043)
 - 225 ml Minibeutel (bioMérieux Best.Nr. 42729)
 - 90 ml Flasche (bioMérieux Best.Nr. 42042)
 - 9 ml Röhrchen (bioMérieux Best.Nr. 42111)
- Selektivagar:
 - Beispiele:
 - Hektoen Agar (bioMérieux Best.Nr. 43111)
 - XLD Agar (bioMérieux Best.Nr. 43563)
 - XLT4 Agar (bioMérieux Best.Nr. 43701)
- Streifen
 - API® 20E (bioMérieux Best.Nr. 20100)
 - oder ID 32 E (bioMérieux Best.Nr. 32400)
 - oder rapid ID 32 E (bioMérieux Best.Nr. 32700)

Informationen zu anderen spezifischen Materialien und Einwegartikeln finden Sie im Gerätebenutzerhandbuch.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- **Nur für die Verwendung durch Fachkundige bestimmt.**
- **Stellen Sie das VIDAS® Gerät in einem Raum auf, der für die Durchführung mikrobiologischer Analysen bestimmt ist.**
- Halten Sie die Regeln der Guten Laborpraxis ein (z.B. die Norm ISO 7218) (3)
- Dieser Kit enthält Bestandteile tierischen Ursprungs. Da durch die Kontrolle der Herkunft und/oder des Gesundheitszustandes der Tiere nicht völlig gewährleistet werden kann, dass diese Produkte keine übertragbaren pathogenen Agenzien enthalten, ist es empfehlenswert, diese als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln (nicht einnehmen, nicht einatmen).
- SPR® aus beschädigten (perforierten) Beuteln nicht verwenden.
- Reagenzienriegel mit sichtbaren Beschädigungen (der Aluminiumfolie oder des Kunststoffes) nicht verwenden.
- Die Reagenzien nach Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Reagenzien (oder Verbrauchsmaterialien) aus unterschiedlichen Chargen nicht mischen.
- Die Reagenzien des Kits enthalten Natriumazid, das mit Blei- oder Kupferrohren zu explosiven Metallaziden reagieren kann. Beim Ableiten in die Kanalisation sollten die Reagenzien immer mit reichlich Wasser verdünnt werden.
- Das Substrat (Küvette 10) enthält ein reizendes Agenz (6,6% Diethanolamin). Beachten Sie den oben genannten Gefahrenhinweis „R“ und die Sicherheitsratschläge „S“.

- Verschüttete Flüssigkeiten müssen nach der Neutralisierung mit flüssigem Reinigungsmittel oder einer Haushaltsbleichlösung mit mindestens 0,5% Natriumhypochlorit gründlich entfernt werden. Bei Verunreinigung auf oder im Gerät folgen Sie bitte den Anweisungen des Benutzerhandbuches. Lösungen, die Bleichmittel enthalten, dürfen nicht in den Autoklaven gestellt werden.
- Das Gerät muss regelmäßig gereinigt und dekontaminiert werden (siehe Benutzerhandbuch).

LAGERUNGSBEDINGUNGEN

- Lagern Sie den VIDAS® SPT Kit bei 2-8°C.
- **Die Reagenzien nicht einfrieren.**
- **Nicht gebrauchte Reagenzien bei 2-8°C lagern.**
- Überprüfen Sie nach dem Öffnen des Kits den SPR®-Beutel. Wenn der Beutel nicht korrekt verschlossen oder beschädigt ist, dürfen die SPR® nicht verwendet werden.
- **Den SPR®-Beutel mit dem Trockenmittel nach jedem Gebrauch wieder sorgfältig verschließen, um die Haltbarkeit der SPR® nicht zu beeinträchtigen, und den gesamten Kit wieder bei 2-8°C lagern.**
- Unter den vorgeschriebenen Lagerungsbedingungen sind alle Bestandteile bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

PROBEN (VORBEREITUNG)

Es werden folgende Protokolle empfohlen.
Die Anreicherungsbouillons vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-25°C) erwärmen lassen.

Standardverfahren für alle Lebensmittel (mit Ausnahme von Rohmilchkäse) und Tierfutter sowie Umweltproben aus der Produktion

- Geben Sie unter sterilen Bedingungen in einen Beutel vom Typ Stomacher mit Filter:
 - X g (X ml) der Probe.
 - 9X ml gepuffertes Peptonwasser.
 Für einige Matrices ist es empfehlenswert, die spezifischen Vorbereitungsverfahren durchzuführen, die in den Normen EN ISO 6887-1 bis 6887-5 und EN ISO 6579 (4-9) beschrieben sind und das *Salmonella* Supplement der Anreicherungsbouillon beizufügen.

Anmerkung 1: für Kakao und Kakao-haltige Produkte kein Brillantgrün hinzugeben.

Anmerkung 2: für saure Produkte ist es nicht empfehlenswert, einen Farbindikator hinzuzugeben.

Anmerkung 3: Für Umweltproben sollte der Probenträger zuvor mit einem sterilen Diluent (z.B. gepuffertes Peptonwasser), das ein geeignetes neutralisierendes Agens (z.B. Lecithin-Polysorbit-L-Histidin-Natriumthiosulfat-Mischung) enthält befeuchtet werden. Nach der Probenahme den Probenträger in supplementiertes gepuffertes Peptonwasser geben. Passen Sie das Volumen dem Probenträger entsprechend an (z.B. für Wattetupfer 10 ml, für Wattepads 100 ml).

Anmerkung 4: Es wurden keine Testproben über 25 g getestet.
- Auf einem Mixer vom Typ Stomacher mischen.

- Geben Sie Y ml *Salmonella* Supplement (Best.Nr. 42650) in folgendem Verhältnis hinzu:

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{Volumen des gepufferten Peptonwassers (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Beispiele:

- 1 ml auf 225 ml gepuffertes Peptonwasser
- 400 µl auf 90 ml gepuffertes Peptonwasser.

Anmerkung 1: Homogenisieren Sie das Supplement vor jedem Gebrauch auf dem Vortex.

Anmerkung 2: Wenn die 1/10 Verdünnung in gepuffertem Peptonwasser auch zur Zählung von Qualitätsindikatoren verwendet wird, folgen Sie den Empfehlungen in der Norm ISO 7218 (3). Berücksichtigen Sie die finale Probenmenge beim initialen Abwiegen der Probe. Die Probe sollte vor Zugabe des *Salmonella* Supplements entnommen werden.

Anmerkung 3: Das Supplement kann direkt dem gepufferten Peptonwasser beigelegt werden, wenn die Zählung von Qualitätsindikatoren nicht mit derselben Testprobe durchgeführt wird.

- Homogenisieren Sie den Inhalt des Stomacher Beutels manuell.
- Inkubieren Sie für 18-24 h bei 41,5 ± 1°C.
- Nach der Inkubation den Inhalt des Stomacher Beutels homogenisieren.

Wenn Sie VIDAS® Heat and Go verwenden, überführen Sie 0,5 ml der Anreicherungsbouillon in die Probenküvette des Reagenzienriegels. Für 5 ± 1 min erhitzen (siehe VIDAS® Heat and Go Benutzerhandbuch). Den Reagenzienriegel aus dem Gerät nehmen und für 10 min abkühlen lassen.

Anmerkung: Verwenden Sie VIDAS® Heat and Go nicht für Eiprodukte und Geflügel-Proben.

Wenn Sie ein Wasserbad verwenden, überführen Sie 2-3 ml der Anreicherungsbouillon in ein Röhrchen. Das Röhrchen verschließen. Für 5 ± 1 min bei 95-100°C erhitzen. Das Röhrchen abkühlen lassen. Die erhitzte Bouillon mischen und 0,5 ml in die Probenküvette des VIDAS® Reagenzienriegels überführen.

- Den VIDAS® Test durchführen.
- Die positiven Ergebnisse bestätigen.

Verfahren für Milchprodukte (inklusive Rohmilchkäse)

- Geben Sie unter sterilen Bedingungen in einen Beutel vom Typ Stomacher mit Filter:
 - X g (X ml) der Probe.
 - 9X ml gepuffertes Peptonwasser (Anreicherungsbouillon).
 Für einige Matrices ist es empfehlenswert, die spezifischen Vorbereitungsverfahren durchzuführen, die in den Normen EN ISO 6887-5 (8) beschrieben sind und das *Salmonella* Supplement der Anreicherungsbouillon beizufügen.

Anmerkung 1: für saure Produkte ist es nicht empfehlenswert, einen Farbindikator hinzuzugeben.

Anmerkung 2: Es wurden keine Testproben über 25 g getestet.
- Auf einem Mixer vom Typ Stomacher mischen.
- Geben Sie Y ml *Salmonella* Supplement (Best.Nr. 42650) in folgendem Verhältnis hinzu:

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{Volumen des gepufferten Peptonwassers (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Beispiel: 1 ml auf 225 ml Gepuffertes Peptonwasser.

Anmerkung 1: Homogenisieren Sie das Supplement vor jedem Gebrauch auf dem Vortex.

Anmerkung 2: Wenn die 1/10 Verdünnung in gepuffertem Peptonwasser auch zur Zählung von Qualitätsindikatoren verwendet wird, folgen Sie den Empfehlungen in der Norm ISO 7218 (3). Berücksichtigen Sie die finale Probenmenge beim initialen Abwiegen der Probe. Die Probe sollte vor Zugabe des *Salmonella* Supplements entnommen werden.

Anmerkung 3: Das Supplement kann direkt dem gepufferten Peptonwasser beigelegt werden, wenn die Zählung von Qualitätsindikatoren nicht mit derselben Testprobe durchgeführt wird.

- Homogenisieren Sie den Inhalt des Stomacher Beutels manuell.
- Inkubieren Sie für 18-24 h bei $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Nach der Inkubation mischen und 1 ml der Suspension in 10 ml auf $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ **erhitzte** SX2 Bouillon (Anreicherungsbouillon) überführen.
- Inkubieren Sie für 6-8 h bei $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Nach der Inkubation die Anreicherungsbouillon homogenisieren.
Wenn Sie VIDAS® Heat and Go verwenden, überführen Sie 0,5 ml der Anreicherungsbouillon in die Probenküvette des Reagenzienriegels. Für 5 ± 1 min erhitzen (siehe VIDAS® Heat and Go Benutzerhandbuch). Den Reagenzienriegel aus dem Gerät nehmen und für 10 min abkühlen lassen.
Wenn Sie ein Wasserbad verwenden, überführen Sie 1-2 ml der Anreicherungsbouillon in ein Röhrchen. Verschließen Sie das Röhrchen und erhitzen Sie dieses für 5 ± 1 min bei $95-100^\circ\text{C}$. Das Röhrchen abkühlen lassen. Die erhitzte Bouillon homogenisieren und 0,5 ml in die Probenküvette des VIDAS® Reagenzienriegels überführen.
- Den VIDAS® Test durchführen.
- Positive Ergebnisse bestätigen.

Bestätigung der positiven Ergebnisse

Jedes positive VIDAS® SPT Ergebnis muss bestätigt werden.

Die Bestätigung erfolgt mit der **nicht erhitzten** Anreicherungsbouillon.

- Isolieren Sie auf einem Selektivagar.
- Inkubieren Sie den Agar gemäß den Anweisungen der Packungsbeilage.
- Identifizieren Sie eine bis fünf charakteristische Kolonien gemäß den herkömmlichen Verfahren, wie sie in den CEN oder ISO Standards beschrieben sind (einschließlich des Reinigungsschrittes) (4).

Bei diskrepanten Ergebnissen (positiv mit dem Alternativverfahren, nicht bestätigt durch die oben beschriebene Methode) müssen vom Labor die erforderlichen Schritte eingeleitet werden, um die Validität der Ergebnisse sicherzustellen.

Es ist empfehlenswert, beispielsweise folgendes zusätzliches Verfahren durchzuführen:

- Überführen Sie 0,1 ml der Anreicherungsbouillon in 10 ml SX2 Bouillon.
- Nach der Inkubation für 16-24 h bei $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ auf einem Selektivagar isolieren.
- Identifizieren Sie eine bis fünf charakteristische Kolonien gemäß den herkömmlichen Verfahren, wie sie in den CEN oder ISO Standards beschrieben sind (4).

TESTDURCHFÜHRUNG

Ausführliche Informationen entnehmen Sie dem Benutzerhandbuch.

Eingabe der VIDAS® PTC Protokoll Daten

Wenn Sie den Test zum ersten Mal durchführen, scannen Sie **vor dem Einlesen der MLE-Daten** den (die) Barcode(s) (am Ende der Packungsbeilage) mit dem externen Barcodeleser ein. Dadurch werden die VIDAS® PTC Protokoll Daten an die Geräte-Software zur Aktualisierung übertragen. Diese Daten sollten nur beim ersten Gebrauch des Tests eingelesen werden.

Eingabe der Master Lot Daten

Hinweis: Wenn Sie den Test zum ersten Mal durchführen, geben Sie das VIDAS® PTC Protokoll (Barcodes am Ende der Packungsbeilage) vor dem Einlesen der MLE-Daten ein. Wenn die MLE-Daten bereits vor dem VIDAS® PTC Protokoll eingelesen wurden, lesen Sie die MLE-Daten nochmals ein.

Für jede neue Reagenziencharge müssen **vor Testbeginn** die Master Lot Daten (Master Lot Entry) mit den MLE-Daten in das Gerät eingegeben werden, andernfalls kann das Gerät keine Ergebnisse ausdrucken. Die Master Lot Daten werden für jede Charge nur einmal eingegeben.

Die Eingabe der MLE-Daten kann je nach Geräteausführung automatisch oder manuell durchgeführt werden (siehe Benutzerhandbuch).

Kalibration

Für jede neu angebrochene Reagenziencharge muss mit dem in der Packung enthaltenen Standard nach Eingabe der Master Lot Daten eine Kalibration durchgeführt werden. Die Rekalibration wird anschließend alle 28 Tage durchgeführt. Dadurch wird die Eichkurve gerätespezifisch justiert und eventuelle lagerungsbedingte minimale Veränderungen des Testsignals kompensiert.

Der mit S1 identifizierte Standard wird **doppelt** getestet (siehe Benutzerhandbuch). Der Wert des Standards muss innerhalb des festgelegten RFV-Bereiches („Relative Fluorescence Value“) liegen. Ist dies nicht der Fall, wiederholen Sie die Kalibration.

Testdurchführung

1. **Nehmen Sie nur die erforderlichen Reagenzien aus dem Kühlschrank.**
2. Verwenden Sie für jede zu testende Probe bzw. Kontrolle oder Standard einen „SPT“ Reagenzienriegel und einen „SPT“ SPR®. **Vergewissern Sie sich, dass der Beutel mit den SPR® nach jedem Gebrauch wieder sorgfältig verschlossen wird.**
3. Der Test wird anhand des „SPT“ Codes vom Gerät erkannt. Der Standard muss mit „S1“ identifiziert und **doppelt** getestet werden.
Wenn die Positivkontrolle getestet werden soll, identifizieren Sie diese mit „C1“.
Wenn die Negativkontrolle getestet werden soll, identifizieren Sie diese mit „C2“.

4. Homogenisieren Sie die Anreicherungsbouillon auf dem Vortex.
Wenn Sie VIDAS® Heat and Go verwenden, überführen Sie 0,5 ml der Anreicherungsbouillon in die Probenküvette des Reagenzienriegels. Für 5 ± 1 min erhitzen (siehe VIDAS® Heat and Go Benutzerhandbuch). Den Reagenzienriegel aus dem Gerät nehmen und für 10 min abkühlen lassen.
Wenn Sie ein Wasserbad verwenden, erhitzen Sie die Anreicherungsbouillon für 5 ± 1 min bei $95-100^{\circ}\text{C}$. Das Röhrchen abkühlen lassen. Die erhitze Bouillon homogenisieren und 0,5 ml in die Probenküvette des VIDAS® Reagenzienriegels überführen.
5. Den Standard und die Kontrollen falls erforderlich auf einem Mixer vom Typ Vortex homogenisieren. Danach **500 µl** in die Probenküvette pipettieren.
Anmerkung: Den Standard und die Kontrollen nicht erhitzen.
6. Laden Sie die SPR®s und die Reagenzienriegel in das Gerät. Vergewissern Sie sich, dass die Farb- und Buchstabencodierung auf dem SPR® mit der auf dem Reagenzienriegel übereinstimmt.
7. Starten Sie den Test (siehe Benutzerhandbuch). Alle weiteren Schritte werden automatisch vom Gerät durchgeführt. Die Ergebnisse liegen nach ca. 48 min vor.
8. Nehmen Sie nach Beendigung des Tests die SPR® und Riegel aus dem Gerät.
9. Entsorgen Sie die SPR® und die Reagenzienriegel nach Gebrauch in einem für Abfälle mit biologischem Risiko geeigneten Abfallbehälter, gemäß den regionalen Vorschriften.

ERGEBNISSE UND INTERPRETATION

Nach Beendigung des Tests werden die Ergebnisse automatisch vom Computer analysiert.

Für jede getestete Probe führt das Gerät in der Ableseküvette des Reagenzienriegels zwei Fluoreszenzmessungen durch.

Die erste Messung ist eine Hintergrundmessung der Substratküvette, bevor der SPR® in das Substrat eintaucht.

Die zweite Messung erfolgt nach Inkubation des Substrats mit dem im SPR® vorhandenen Enzym.

Der RFV (Relative Fluorescence Value) wird durch Subtraktion der Hintergrundmessung vom Endergebnis berechnet. Diese Berechnung wird auf dem Ergebnisblatt angegeben.

Der RFV jeder Probe wird vom VIDAS® Gerät wie folgt interpretiert:

$$\text{Testwert} = \frac{\text{RFV Probe}}{\text{RFV Standard}}$$

Grenzwerte und Interpretationen

Testwert	Interpretation
< 0,25	Negativ
≥ 0,25	Positiv

Der Befundausdruck enthält folgende Angaben:

- Testtyp,
- Identifizierung der Probe,
- Datum und Uhrzeit,
- Chargennummer und Verfallsdatum des Kits,
- für jede Probe den RFV, den Testwert und die Interpretation der Ergebnisse.

Ein Ergebnis, dessen Testwert unterhalb des Grenzwertes liegt, zeigt an, dass die Probe keine Salmonellen enthält oder Salmonellen in Konzentrationen enthält, die unterhalb der Nachweisgrenze liegen.

Ein Ergebnis, dessen Testwert gleich oder größer als der Grenzwert ist, zeigt an, dass es sich um eine mit Salmonellen kontaminierte Probe handelt. Folgen Sie in diesem Fall den Anweisungen in dem entsprechenden Abschnitt „Bestätigung positiver Ergebnisse“.

Die Ergebnisse sind ungültig:

- wenn die Hintergrundmessung oberhalb des festgelegten Schwellenwertes liegt (geringe Kontamination des Substrates).
Wiederholen Sie in diesem Fall den Test mit der erhitzten Bouillon oder dem betreffenden Reagenz (S1, C1 oder C2).
- wenn für die Chargennummer des Reagenzienriegels kein gespeicherter Standard vorliegt.
Führen Sie in diesem Fall mit Reagenzienriegeln derselben Chargennummer eine Kalibration durch (Doppelansatz). Das Testergebnis kann dann mit diesen neu gespeicherten Standards berechnet werden. Weitere Informationen siehe VIDAS® Benutzerhandbuch.

QUALITÄTSKONTROLLE

Jeder VIDAS® SPT Kit enthält eine Positiv- und eine Negativkontrolle.

Diese Kontrollen müssen für jede neu angebrochene Reagenziencharge getestet werden, um die Kalibration zu überprüfen (siehe Abschnitt „Kalibration“).

Es wird außerdem empfohlen, die Kontrollen bei jedem neuen Testkit mitzuführen, um eine Veränderung der Leistungsdaten der Reagenzien auszuschließen.

Damit das Gerät den Wert der Kontrollen überprüfen kann, müssen diese mit C1 und C2 identifiziert werden.

Wenn die Werte der Kontrollen von den zu erwartenden Werten abweichen, können die Ergebnisse nicht validiert werden.

Anmerkung

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Qualitätskontrolle in Übereinstimmung mit den regional gültigen Vorschriften durchzuführen.

LIMITIERUNGEN

Die Leistungsdaten dieses Testsystems wurden nur für den in der technischen Dokumentation, der Arbeitsanleitung oder im Benutzerhandbuch beschriebenen Gebrauch ermittelt.

Jede Abweichung oder Änderung der Arbeitsanweisung kann die Ergebnisse beeinträchtigen.

Achtung

Der VIDAS® SPT Test wurde für zahlreiche Proben evaluiert. In Anbetracht der Variabilität der Produkte und Herstellungsprozesse ist es empfehlenswert zu prüfen, dass die Zusammensetzung der getesteten Matrices die Zuverlässigkeit der VIDAS® SPT Ergebnisse nicht beeinträchtigt.

Das VIDAS® Heat and Go System wurde für zahlreiche Lebensmittelmatrizes evaluiert. In Anbetracht der Variabilität der Produkte und Herstellungsprozesse ist es jedoch empfehlenswert, bei Inbetriebnahme des Systems zu prüfen, dass das Erhitzen nicht zur Gerinnung oder größeren Präzipitationen der Probe in der Probenküvette führt. Dies könnte dazu führen, dass das Probenvolumen, das in den SPR® pipettiert wird, nicht korrekt ist.

PERFORMANCE

In externen Evaluierungen wurden folgende Leistungsdaten ermittelt:

443 Proben (233 negative, 210 positive davon 98 mit natürlicher Kontamination) wurden gleichzeitig mit dem VIDAS® SPT nach der EN ISO 6579 Methode (9) getestet.

- Zusätzlich positiv mit VIDAS® SPT: 1
- Falsch negative VIDAS® SPT Ergebnisse: 1
- Übereinstimmende Ergebnisse: 441

Die Leistungsdaten wurden mit Kulturmedien von bioMérieux ermittelt.

BESEITIGUNG DER ABFÄLLE

Entsorgen Sie alle gebrauchten und nicht gebrauchten Reagenzien sowie kontaminierte Einwegmaterialien gemäß den für infektiöse oder potenziell infektiöse Materialien geltenden Bestimmungen.








Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, die entstandenen Fest- und Flüssigabfälle gemäß der jeweiligen Risikogruppe zu behandeln und deren Entsorgung in Übereinstimmung mit den gültigen gesetzlichen Bestimmungen sicherzustellen.

LITERATUR

1. KERR S., BALL H. J., MACKIE D.P., et al. - Diagnostic application of monoclonal antibodies to outer membrane protein for rapid detection of *Salmonella* - *Journal of Applied Bacteriology* - 1992, vol. 72, p. 302-308.
2. LE MINOR, L. - *Salmonella* lignieres - In KRIEG N.R. and HOLT J.G. - *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* - Ed. Williams and Wilkins - Baltimore, MD., 1984 - vol. 1, p. 427-458
3. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations* - ISO 7218 - 2007
4. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.* - EN ISO 6887-1 - 1999.
5. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products.* - EN ISO 6887-2 – 2004
6. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products.* - EN ISO 6887-3 – 2004

7. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products* - EN ISO 6887-4 - 2004
8. *Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products* - EN ISO 6887-5 - 2010.
9. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.* - EN ISO 6579 - 2002.

SYMBOLE


Symbol	Bedeutung
	Bestellnummer
	Hersteller
	Temperaturbegrenzung
	Verwendbar bis
	Chargenbezeichnung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen

BIOMÉRIEUX, das blaue Logo, VIDAS, SPR, chromID und API sind verwendete, angemeldete und/oder eingetragene Marken von bioMérieux SA oder einer ihrer Niederlassungen.

Stomacher ist eine Marke von Seward Ltd.

Alle anderen Marken und Produktnamen sind Eigentum ihrer jeweiligen Besitzer



 **bioMérieux SA**
 RCS LYON 673 620 399
 69280 Marcy-l'Etoile / France
 Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90
 www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
 Box 15969,
 Durham, NC 27704-0969 / USA
 Tel. (1) 919 620 20 00
 Fax (1) 919 620 22 11

VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT)

Exclusivamente para control microbiológico

VIDAS[®] UP *Salmonella* es un ensayo cualitativo automatizado, basado en la tecnología específica de captura mediante fagos, para su uso en los equipos de la familia VIDAS[®] para la detección de *Salmonella* en productos de alimentación humana, animal, y en muestras de ambientes de producción.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Salmonella es una de las principales causas de intoxicación alimentaria. La detección de *Salmonella* implica la realización de complejos protocolos que pueden llevar más de 5 días para confirmar que una muestra es negativa (1). Las técnicas de screening basadas en ensayos inmunoenzimáticos (EIA : Enzyme immunoassay) pueden simplificar y acelerar la detección. El género *Salmonella* es complejo en cuanto a sus antígenos, con más de 2400 serotipos diferenciados por antígenos somáticos (O) de naturaleza lipopolisacárida, y por antígenos flagelares (H) de naturaleza proteica (2). Gracias a una tecnología innovadora basada en proteínas recombinantes de fagos, el test VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT) permite la detección específica de *Salmonella* en productos alimenticios para consumo humano, animal y en muestras de ambientes de producción. Es posible detectar bacterias *Salmonella* móviles y no móviles.

PRINCIPIO

VIDAS[®] SPT es un ensayo inmunoenzimático que se realiza en los equipos de la familia VIDAS[®] (consulte el Manual del Usuario) para la detección de antígenos de *Salmonella* mediante la técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay, esto es, ensayo de fluorescencia ligado a enzima).

El cono (SPR[®] o Solid Phase Receptacle, esto es, recipiente de fase sólida) sirve a la vez de fase sólida y de dispositivo de pipeteo. El interior del SPR[®] está recubierto de proteínas específicas para los antígenos de *Salmonella*. Los reactivos para el ensayo se proporcionan listos al empleo y predosificados en los cartuchos sellados.

El equipo realiza automáticamente todos los pasos del ensayo. El medio de reacción es aspirado y expulsado del SPR[®] varias veces.

Parte del caldo de enriquecimiento se dosifica en el cartucho de reactivos. Los antígenos de *Salmonella* presentes se unirán al interior del SPR[®]. Los componentes no ligados se eliminan durante los pasos de lavado. Las proteínas conjugadas con la fosfatasa alcalina son aspiradas y expulsadas del SPR[®] y se unirán a los antígenos de *Salmonella* que a su vez estén unidos a la pared del SPR[®].

Con un último paso de lavado se elimina el conjugado no ligado.

Durante el paso final de detección, el sustrato (4-metilumbeliferil fosfato) es aspirado y después expulsado del SPR[®]. La enzima del conjugado cataliza la hidrólisis de este sustrato en un producto fluorescente (4-metilumbeliferona) cuya fluorescencia se mide a 450 nm.

Al final del ensayo, el equipo analiza automáticamente los resultados y y se genera un valor de test para cada muestra. A continuación este valor se compara con los estándares guardados (umbrales), y se interpreta cada resultado (positivo, negativo).

CONTENIDO DEL KIT (60 tests)

60 cartuchos SPT	STR	Listos al empleo.
60 SPR [®] SPT	SPR	Listos al empleo. El interior de los SPR está recubierto de proteínas específicas para los antígenos de <i>Salmonella</i> .
Estándar SPT (1 x 6 ml)	S1	Listos al empleo. Antígeno purificado e inactivado de <i>Salmonella</i> + conservante + estabilizante proteico. El rango de confianza aparece indicado en la tarjeta MLE después de la frase: "Standard (S1) RFV Range".
Control positivo SPT (1 x 6 ml)	C1	Listos al empleo. Antígeno purificado e inactivado de <i>Salmonella</i> + conservante + estabilizante proteico. El rango de confianza aparece indicado en la tarjeta MLE después de la frase: "Control C1 (+) Test Value Range".
Control negativo (1 x 6 ml)	C2	Listos al empleo. Tampón salino TRIS (TBS) (150 mmol/l) - Tween pH 7,6 + conservante. El valor máximo aceptable para el test aparece indicado en la tarjeta MLE después de la frase: "Control C2 (-) Test Value Range".
1 tarjeta MLE (Master Lot Entry, esto es, tarjeta lote patrón)		Especificaciones de calibración de fábrica con los datos necesarios para calibrar el test: consulte el Manual del Usuario para la lectura de la tarjeta MLE.
1 prospecto proporcionado en el kit o disponible para descargar en www.biomerieux.com/techlib		

El SPR®

Durante la producción de los SPR®, el interior de cada cono se recubre de proteínas específicas para los antígenos de *Salmonella*.

Cada SPR® está identificado con el código "SPT". Extraiga de la bolsa únicamente el número de SPR® que necesite y **vuelva a sellar correctamente la bolsa después de abrirla**.

El cartucho de reactivos

El cartucho está compuesto por 10 pocillos cubiertos por una hoja de aluminio sellada y etiquetada. La etiqueta contiene un código de barras donde se indica el código del ensayo, el número de lote del kit y la fecha de caducidad. La hoja de aluminio del primer pocillo está perforada para facilitar la introducción de la muestra. El último pocillo es una cubeta donde se realiza la lectura fluorométrica. Los diferentes reactivos necesarios para el ensayo están en los pocillos intermedios.

Descripción del cartucho SPT

Pocillos	Reactivos
1	Pocillo para la muestra: dosifique 0,5 ml de caldo de enriquecimiento, estándar o control.
2	Solución de prelavado (400 µl): tampón pH 7,8 + conservante.
3 - 4 - 5 - 7 - 8 - 9	Solución de lavado (600 µl): TRIS – NaCl (150 mmol/l) – Tween pH 7,6 + conservante.
6	Conjugado (400 µl): proteínas específicas para los antígenos de <i>Salmonella</i> marcadas con fosfatasa alcalina + conservante.
10	Cubeta de lectura con sustrato (300 µl): 4-metil-umbeliferil-fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina* (DEA) (0,62 mol/l o 6,6%, pH 9,2) + conservante.

*** Reactivo IRRITANTE:**

- **R 36:** Irritante para los ojos.
 - **S 26:** en caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente con abundante agua y consultar a un médico.
- Para más información, consulte la Ficha técnica de seguridad de materiales, disponible a petición.

REACTIVOS, MATERIALES Y CONSUMIBLES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Equipo de la familia VIDAS®
- Pipetas o micropipetas desechables para dosificar los volúmenes pertinentes
- VIDAS® Heat and Go (de bioMérieux, ref. 93554 ó 93555 ó 93556: contacte con su representante de bioMérieux) o baño María (95-100 °C) o sistema equivalente
- Mezclador tipo Stomacher
- Bolsa tipo Stomacher con filtro
- Suplemento *Salmonella* (*Salmonella* SUPP) (de bioMérieux, ref.42650)
- Caldo SX2 (de bioMérieux, ref. 42121, 20 tubos)
- Agar chromID™ *Salmonella* (SM2) (de bioMérieux, ref. 43621 ó 43629)

Las siguientes referencias se facilitan a modo de orientación.

- Agua de Peptona Tamponada
 - Bolsa de 3 litros (de bioMérieux, ref. 42629)
 - Frasco de 225 ml (de bioMérieux, ref. 42043)
 - Minibolsa de 225 ml (de bioMérieux, ref. 42729)
 - Frasco de 90 ml (de bioMérieux, ref. 42042)
 - Tubo de 9 ml (de bioMérieux, ref. 42111)
- Agar selectivo:
 - Ejemplos:
 - Agar Hektoen (de bioMérieux, ref. 43111)
 - Agar XLD (de bioMérieux, ref. 43563)
 - Agar XLT4 (de bioMérieux, ref. 43701)
- Galería
 - API® 20E (de bioMérieux, ref. 20 100)
 - o ID 32 E (de bioMérieux, ref. 32400)
 - o Rapid ID 32 E (de bioMérieux, ref. 32700)

Para más información sobre otros materiales y consumibles específicos, consulte el Manual del Usuario del equipo.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- **Para uso profesional únicamente.**
- **Coloque el equipo VIDAS® en una sala diseñada para análisis microbiológicos.**
- Observe las buenas prácticas de laboratorio (p. ej. la norma ISO 7218) (3)
- Este kit contiene productos de origen animal. Aunque se conozcan la procedencia o el estado sanitario de los animales por los correspondientes certificados, la ausencia de agentes patógenos transmisibles no está totalmente garantizada. Así pues, se recomienda tratar estos productos como potencialmente infecciosos y manipularlos con las precauciones habituales de seguridad (no ingerir, no inhalar).
- No utilice los SPR®s si la bolsa está perforada.
- No utilice STR visiblemente deteriorados (hoja de aluminio o plástico dañados).
- No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- No mezcle reactivos (o materiales desechables) de lotes distintos.
- Los reactivos del kit contienen azida sódica, que puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas explosivas. Si se desechan líquidos con azida sódica por las tuberías de desagüe, hay que dejar correr abundante agua para que no se formen depósitos.
- El sustrato del pocillo 10 contiene un agente irritante (6,6% dietanolamina). Consulte el aviso de riesgo "R" y la recomendación "S" anteriores.
- Si se produce un derrame o vertido, aplique primero un detergente líquido y una solución de lejía doméstica que contenga como mínimo un 0,5% de hipoclorito sódico. Consulte las indicaciones del Manual del Usuario sobre cómo limpiar vertidos sobre el sistema o en su interior. No esterilice en autoclave soluciones que contengan lejía.
- El equipo debe limpiarse y descontaminarse periódicamente (consulte el Manual del Usuario).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

- Almacene el kit VIDAS® SPT a 2-8 °C.
- **No congele los reactivos.**
- **Almacene todos los reactivos no utilizados a 2-8 °C.**
- Después de abrir el kit, compruebe que la bolsa de SPR® está correctamente sellada y no presenta daños. De lo contrario, no utilice los SPR®.
- **Después de cada uso, vuelva a sellar cuidadosamente la bolsa con el desecante dentro para mantener la estabilidad de los SPR® y vuelva a poner el kit completo a 2-8 °C.**
- Si se almacenan en las condiciones recomendadas, todos los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

MUESTRAS (PREPARACIÓN)

Se recomiendan los protocolos expuestos a continuación. Espere a que los caldos de enriquecimiento alcancen la temperatura ambiente (18-25 °C) antes de usarlos.

Procedimiento estándar para todos los alimentos de consumo humano (excluido el queso elaborado con leche cruda) y animal, y las muestras de ambientes de producción

- En una bolsa tipo Stomacher con filtro, introduzca asepticamente:
 - X g (X ml) de muestra.
 - 9X ml de Agua de Peptona Tamponada.
 Para ciertas matrices, se recomienda seguir las técnicas específicas de preparación expuestas en las normas EN ISO de 6887-1 a 6887-5, y EN ISO 6579 (4-9), y añadir el Suplemento *Salmonella* al enriquecimiento.
- **Nota 1:** Para cacao y productos que contenga cacao, no añada verde brillante.
- **Nota 2:** Para productos ácidos, se desaconseja añadir un indicador de color.
- **Nota 3:** Para tomar muestras ambientales, el dispositivo de muestreo debe humedecerse primero con un diluyente estéril (p. ej. Agua de Peptona Tamponada) que contenga un agente neutralizador adecuado (p. ej. mezcla de Lecitina-Polisorbato-L-histidina-Tiosulfato de sodio). Tras tomar las muestras, coloque el dispositivo en un volumen adecuado de Agua de Peptona Tamponada suplementada (p. ej. hisopo en 10 ml, esponja en 90 ml).
- **Nota 4:** No se han analizado muestras de más de 25 g.
- Homogeneice con un mezclador tipo Stomacher.
- Añada Y ml de Suplemento *Salmonella* (ref. 42650), correspondiente a:

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{volumen de Agua de Peptona Tamponada (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Ejemplos:

- 1 ml por 225 ml de Agua de Peptona Tamponada
- 400 µl por 90 ml de Agua de Peptona Tamponada.

Nota 1: homogeneice el suplemento con ayuda de un agitador tipo Vortex antes de cada uso.

Nota 2: Si la dilución 1/10 en Agua de Peptona Tamponada se utiliza también para el recuento de indicadores de calidad, siga las recomendaciones de la norma ISO 7218 (3). Tenga esta porción de muestreo en cuenta cuando pese inicialmente la muestra. El muestreo debe realizarse antes de añadir el Suplemento *Salmonella*.

Nota 3: El suplemento se puede añadir directamente al Agua de Peptona Tamponada si el recuento de indicadores de calidad no se realiza utilizando la misma muestra de ensayo.

- Homogeneice manualmente el contenido de la bolsa tipo Stomacher.
- Incube durante 18-24 horas a 41,5 ± 1 °C.
- Después de la incubación, homogeneice el contenido de la bolsa tipo Stomacher. Si utiliza el bloque calefactor VIDAS® Heat and Go, transfiera 0,5 ml de caldo de enriquecimiento al pocillo para la muestra del cartucho. Caliente durante 5 ± 1 minutos (consulte el Manual del Usuario de VIDAS® Heat and Go). Retire el cartucho y espere 10 minutos a que se enfríe.
- **Nota:** No utilice VIDAS® Heat and Go para ovoproductos y muestras de carne de ave de corral. Si utiliza un baño María, transfiera 2-3 ml del caldo de enriquecimiento a un tubo. Selle el tubo. Caliente durante 5 ± 1 minutos a 95-100 °C. Enfríe el tubo. Mezcle el caldo hervido y transfiera 0,5 ml al pocillo para la muestra del cartucho VIDAS®.
- Realice el test VIDAS®.
- Confirme los resultados positivos.

Procedimiento para productos lácteos (incluido el queso elaborado con leche cruda)

- En una bolsa tipo Stomacher con filtro, introduzca asepticamente:
 - X g (X ml) de muestra.
 - 9X ml de Agua de Peptona Tamponada (caldo de enriquecimiento).
 Para ciertas matrices, se recomienda seguir las técnicas específicas de preparación expuestas en la norma EN ISO 6887-5 (8) y añadir el Suplemento *Salmonella* al enriquecimiento.
- **Nota 1:** Para productos ácidos, se desaconseja añadir un indicador de color.
- **Nota 2:** No se han analizado muestras de más de 25 g.
- Homogeneice con un mezclador tipo Stomacher.
- Añada Y ml de Suplemento *Salmonella* (ref. 42650), correspondiente a:

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{volumen de Agua de Peptona Tamponada (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Ejemplo: 1 ml por 225 ml de Agua de Peptona Tamponada.

Nota 1: Homogeneice el suplemento con ayuda de un agitador tipo Vortex antes de cada uso.

Nota 2: Si la dilución 1/10 en Agua de Peptona Tamponada se utiliza también para el recuento de organismos indicadores de calidad, siga las recomendaciones de la norma ISO 7218 (3). Tenga esta porción de muestreo en cuenta cuando pese inicialmente la muestra. El muestreo debe realizarse antes de añadir el Suplemento *Salmonella*.

Nota 3: El suplemento se puede añadir directamente al Agua de Peptona Tamponada si el recuento de indicadores de calidad no se realiza utilizando la misma muestra de ensayo.

- Homogeneice manualmente el contenido de la bolsa tipo Stomacher.
- Incube durante 18-24 horas a 41,5 ± 1 °C.
- Después de la incubación, mezcle y transfiera 1 ml de suspensión a 10 ml de Caldo SX2 **precalentado a 41.5 ± 1 °C** (caldo de enriquecimiento).
- Incube durante 6-8 horas a 41.5 ± 1 °C.

- Después de la incubación, homogeneice el caldo de enriquecimiento.

Si utiliza el bloque calefactor VIDAS® Heat and Go, transfiera 0,5 ml de caldo de enriquecimiento al pocillo para la muestra del cartucho. Caliente durante 5 ± 1 minutos (consulte el Manual del Usuario de VIDAS® Heat and Go). Retire el cartucho y espere 10 minutos a que se enfríe.

Si utiliza un baño María, transfiera 1-2 ml del caldo de enriquecimiento a un tubo. Selle el tubo. Caliente durante 5 ± 1 minutos a $95-100$ °C. Enfríe el tubo. Mezcle el caldo hervido y transfiera 0,5 ml al pocillo para la muestra del cartucho VIDAS®.

- Realice el test VIDAS®.
- Confirme los resultados positivos.

Confirmación de los resultados positivos obtenidos

Todos los resultados positivos obtenidos con VIDAS® SPT deben confirmarse.

La confirmación debe realizarse a partir del caldo de enriquecimiento **sin hervir**.

- Aísle en un agar selectivo.
- Incube el agar siguiendo las instrucciones del prospecto.
- Identifique de 1 a 5 colonias características mediante las pruebas convencionales descritas en los métodos normalizados por CEN o ISO (incluido el paso de purificación) (4).

Si los resultados son discrepantes (positivo con el método alternativo, sin confirmar con las pruebas arriba mencionadas), el laboratorio debe tomar las medidas necesarias para asegurar que los resultados obtenidos son válidos.

Se recomienda, por ejemplo, realizar el siguiente protocolo complementario:

- Transfiera 0,1 ml de caldo de enriquecimiento a 10 ml de Caldo SX2.
- Tras incubar durante 16-24 horas a 41.5 ± 1 °C, aísle en un agar selectivo.
- Identifique de 1 a 5 colonias características mediante las pruebas convencionales descritas en los métodos normalizados por CEN o ISO (4).

MODO DE EMPLEO

Para obtener las instrucciones completas, consulte el Manual del Usuario.

Introducción de los datos del protocolo VIDAS® PTC

Cuando utilice por primera vez este ensayo, **y antes de leer la tarjeta MLE**, lea el (los) código(s) de barras (que aparecen al final del prospecto) con el lector de código de barras externo del equipo. Esta lectura permite transferir los datos del protocolo VIDAS® PTC al programa del equipo para su actualización. Estos datos sólo deben leerse cuando se utilice por primera vez el ensayo.

Introducción de los datos de la tarjeta MLE

Nota: Cuando utilice por primera vez el ensayo, introduzca el protocolo VIDAS® PTC (códigos de barras al final del prospecto) antes de leer la tarjeta MLE. Si se ha leído la tarjeta MLE antes del protocolo VIDAS® PTC, vuelva a leer los datos de la tarjeta.

Antes de usar un nuevo lote de reactivos, las especificaciones (o datos de la curva de calibración de fábrica) deben introducirse en el equipo mediante la tarjeta MLE. Si esta operación no se efectúa **antes de iniciar las pruebas**, el equipo no podrá imprimir resultados. Estos datos se introducen solo una vez por cada lote.

Dependiendo del equipo, los datos de la tarjeta MLE se pueden introducir de forma manual o de forma automática (consulte el Manual del Usuario).

Calibración

La calibración, que se realiza con el estándar incluido en el kit, debe llevarse a cabo cada vez que se abre un nuevo lote de reactivos, después de introducir las especificaciones de la tarjeta MLE. Después, la calibración debería realizarse cada 28 días. Con esta operación se obtienen curvas de calibración específicas del equipo y se compensan las pequeñas variaciones que puedan darse en la señal de ensayo a lo largo de la vida útil del kit.

El estándar, identificado como S1, debe analizarse por **duplicado** (consulte el Manual del Usuario). El valor estándar debe estar comprendido en el rango RFV ("Relative Fluorescence Value", esto es, valor de fluorescencia relativo) fijado. Si no es así, debe volver a realizarse la calibración.

Modo de realización del ensayo

1. **Saque de la nevera únicamente los reactivos necesarios.**
2. Utilice un cartucho "SPT" y un SPR® "SPT" por cada muestra, control o estándar que vaya a analizar. **Asegúrese de que la bolsa de almacenamiento ha quedado bien sellada después de retirar los SPR®s necesarios.**
3. En el equipo, el ensayo se identifica con el código "SPT". El estándar debe identificarse con "S1" y analizarse por **duplicado**. Si se va a analizar el control positivo, debe identificarse con "C1". Si es necesario analizar el control negativo, debe identificarse con "C2".
4. Homogeneice el caldo de enriquecimiento con un agitador tipo Vortex. Si utiliza el bloque calefactor VIDAS® Heat and Go, transfiera 0,5 ml de caldo de enriquecimiento al pocillo para la muestra del cartucho. Caliente durante 5 ± 1 minutos (consulte el Manual del Usuario de VIDAS® Heat and Go). Retire el cartucho y espere 10 minutos a que se enfríe. Si utiliza un baño María, caliente el caldo de enriquecimiento durante 5 ± 1 minutos a $95-100$ °C. Enfríe el tubo. Mezcle el caldo hervido y transfiera 0,5 ml al pocillo para la muestra del cartucho VIDAS®.
5. Si es necesario, mezcle el estándar y los controles usando un mezclador tipo Vortex y dosifique **500 µl** en el pocillo para la muestra.

Nota: No caliente el estándar y los controles.

6. Cargue los SPR® y cartuchos en el equipo. Realice una comprobación para asegurarse de que las etiquetas de color con el código de ensayo en los SPR® y los cartuchos de reactivos coinciden.
7. Inicie el ensayo según se indica en el Manual del Usuario. El equipo realiza automáticamente todos los pasos del ensayo. Los resultados se obtienen en aproximadamente 48 minutos.
8. Una vez finalizado el ensayo, retire los SPR® y cartuchos del equipo.
9. Deseche los SPR® y los cartuchos utilizados depositándolos en un contenedor apropiado para materiales biológicamente peligrosos de acuerdo con la normativa local vigente.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Una vez finalizado el ensayo, el ordenador analiza los resultados automáticamente.

La fluorescencia se mide dos veces por cada muestra analizada en la cubeta de lectura del cartucho de reactivos.

La primera lectura es una lectura del ruido de fondo de la cubeta con sustrato antes de la introducción del SPR® en el sustrato.

La segunda lectura se efectúa después de incubar el sustrato con la enzima que queda en el interior del SPR®.

El RFV se calcula restando la lectura del ruido de fondo del resultado final. Este cálculo figura en la hoja de resultados.

El RFV obtenido para cada muestra es interpretado por el equipo VIDAS® de la siguiente forma:

$$\text{Valor del test} = \frac{\text{RFV muestra}}{\text{RFV estándar}}$$

Umbrales e interpretaciones

Umbral para el valor de test	Interpretación
< 0,25	Negativo
≥ 0,25	Positivo

El informe impreso incluye:

- el tipo de test realizado;
- la identificación de la muestra;
- la fecha y la hora;
- el número de lote y la fecha de caducidad del kit;
- el RFV, el valor de test y el resultado interpretado de cada muestra.

Un resultado con un valor de test inferior al valor umbral indica que la muestra no contiene *Salmonella* o contiene *Salmonella* a una concentración inferior al límite de detección.

Un resultado con un valor de test superior o igual al valor umbral indica que la muestra está contaminada con *Salmonella*. En este caso, consulte el apartado "Confirmación de resultados positivos" correspondiente.

En el informe aparecen resultados no válidos:

- Cuando la lectura del ruido de fondo es superior a un valor de corte predeterminado (lo que indica contaminación del sustrato de bajo nivel). En este caso, repita el ensayo con el caldo calentado o el reactivo usado (S1, C1 o C2).
- Si no hubiera un estándar disponible para el número de lote del cartucho utilizado en el test de la muestra. En este caso, analice un estándar por duplicado en cartuchos que tengan el mismo número de lote que el test de la muestra no válido. Después se puede volver a calcular el resultado del test de la muestra utilizando el nuevo estándar guardado. Consulte el Manual del Usuario de VIDAS® para obtener más información.

CONTROL DE CALIDAD

En cada kit VIDAS® SPT hay un control positivo y otro negativo.

Estos controles deben realizarse cada vez que se abre un lote nuevo de reactivos para verificar la calibración (consulte el apartado "Calibración").

Asimismo, es aconsejable realizar los controles cada vez que se reciben kits nuevos para comprobar que los reactivos no han perdido efectividad.

El sistema sólo podrá comprobar los valores de control si están identificados con C1 y C2.

No se puede validar ningún resultado si los valores de control se desvían de los valores previstos.

Nota

Es responsabilidad del usuario llevar a cabo el control de calidad de acuerdo con la normativa local aplicable.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

No se han determinado las características de rendimiento del sistema para usos distintos a los indicados en las etiquetas, el prospecto o el manual del usuario.

Toda modificación del procedimiento puede afectar a los resultados.

Aviso

El ensayo VIDAS® SPT ha sido probado con numerosos productos alimenticios. Sin embargo, dada la gran diversidad de productos alimenticios y procesos de fabricación, se recomienda comprobar que la composición de las matrices analizadas no afecta a la fiabilidad de los resultados de VIDAS® SPT.

El bloque calefactor VIDAS® Heat and Go ha sido evaluado con un gran número de matrices alimentarias. Dada la gran diversidad de matrices alimentarias y procesos de fabricación, al poner en funcionamiento el sistema se recomienda verificar que en el paso de calentamiento la muestra no se coagula o precipita notablemente en el pocillo para la muestra del cartucho VIDAS®, ya que ello podría provocar que se tome un volumen incorrecto de muestra en el SPR®.

RENDIMIENTO

Los siguientes datos de rendimiento se determinaron durante evaluaciones externas:

Se analizaron simultáneamente 443 muestras (233 negativas y 210 positivas, incluidas 98 contaminadas de forma natural) utilizando VIDAS® SPT y el método EN ISO 6579 (9).

- Resultados positivos adicionales con VIDAS® SPT: 1
- Resultados negativos falsos con VIDAS® SPT: 1
- Resultados coincidentes: 441

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando medios de cultivo de bioMérieux.

ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

Los reactivos utilizados y no utilizados, así como cualesquiera materiales desechables contaminados deben eliminarse siguiendo los procedimientos para la eliminación de productos infecciosos o potencialmente infecciosos.








Es responsabilidad de cada laboratorio gestionar los residuos sólidos y efluentes según su naturaleza y su grado de peligrosidad, y tratarlos y eliminarlos (o encargar a terceros su tratamiento y eliminación) según las normativas aplicables.

BIBLIOGRAFÍA

1. KERR S., BALL H. J., MACKIE D.P., et al. - Diagnostic application of monoclonal antibodies to outer membrane protein for rapid detection of *Salmonella* - *Journal of Applied Bacteriology* - 1992, vol. 72, p. 302-308.
2. LE MINOR, L. - *Salmonella* ligninieres - In KRIEG N.R. and HOLT J.G. - *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* - Ed. Williams and Wilkins - Baltimore, MD., 1984 - vol. 1, p. 427-458
3. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations* - ISO 7218 - 2007
4. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.* - EN ISO 6887-1 - 1999.
5. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products.* - EN ISO 6887-2 - 2004
6. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products.* - EN ISO 6887-3 - 2004
7. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products* - EN ISO 6887-4 - 2004

8. *Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products* - EN ISO 6887-5 - 2010.
9. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of Salmonella spp.* - EN ISO 6579 - 2002

TABLA DE SÍMBOLOS


Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Fabricante
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Código de lote
	Consultar el modo de empleo
	Contenido suficiente para <n> tests

BIOMÉRIEUX, el logo azul, VIDAS, SPR, chromID y API son marcas comerciales utilizadas, registradas o pendientes de registro de bioMérieux SA o una de sus filiales.

Stomacher es una marca comercial perteneciente a Seward Ltd.

Los demás nombres y marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.



 **bioMérieux SA**
 RCS LYON 673 620 399
 69280 Marcy-l'Etoile / France
 Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90
 www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
 Box 15969,
 Durham, NC 27704-0969 / USA
 Tel. (1) 919 620 20 00
 Fax (1) 919 620 22 11

VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT)

Esclusivamente per controllo microbiologico

Basato sulla tecnologia di cattura specifica dei fagi, VIDAS[®] UP *Salmonella* è un test qualitativo, automatizzato sugli strumenti della famiglia VIDAS[®]. Questo test permette la ricerca delle *Salmonella* nei prodotti per l'alimentazione umana ed animale e nei campioni degli ambienti di produzione.

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

Le *Salmonella* sono uno dei principali agenti delle intossicazioni alimentari. La loro ricerca, tramite protocolli indaginosi, può richiedere fino a 5 giorni, per poter essere sicuri della loro assenza in un campione (1). Le analisi immuno-enzimatiche (EIA) basate su delle tecniche di screening possono contribuire ad accelerare ed a semplificare la rilevazione.

Le *Salmonella* formano un gruppo antigenico complesso con più di 2400 serovar differenziati da antigeni somatici (O) di natura lipopolisaccaridica, e da antigeni flagellari (H) di natura proteica (2).

Il test VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT), grazie ad una tecnologia innovativa basata su proteine ricombinanti di fago, permette la ricerca specifica delle *Salmonella* nei prodotti per l'alimentazione umana ed animale e nei campioni degli ambienti di produzione. Il test permette l'individuazione dei ceppi mobili ed immobili di *Salmonella*.

PRINCIPIO

VIDAS[®] SPT è un test immunoenzimatico, da utilizzare sugli strumenti della famiglia VIDAS[®] (vedere il Manuale dell'Utilizzatore), che permette la rilevazione di antigeni di *Salmonella* con il metodo ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

I coni (SPR[®]), monouso, servono sia da fase solida che da sistema di pipettamento. L'interno del cono è ricoperto da proteine specifiche di antigeni delle *Salmonella*. Gli altri reattivi della reazione immunologica ELFA sono pronti per l'uso e pre-distribuiti nella cartuccia.

Tutte le fasi del test sono realizzate automaticamente dallo strumento; sono costituite da una successione di cicli di aspirazione/rilascio del mezzo di reazione.

Un'aliquota del brodo di arricchimento viene introdotta nella cartuccia. Gli antigeni delle *Salmonella* presenti si fissano all'interno del cono. Gli elementi non legati vengono eliminati tramite lavaggio. In seguito, le proteine coniugate alla fosfatasi alcalina, sono aspirate/rilasciate nel cono e si fissano agli antigeni di *Salmonella*, a loro volta fissati alla parete del cono.

Delle nuove fasi di lavaggio eliminano il coniugato non fissato.

Nella fase finale di rivelazione il substrato (4-Metil-umbelliferil fosfato) viene aspirato/rilasciato dal cono; l'enzima del coniugato ne catalizza l'idrolisi in un prodotto fluorescente (4-Metil-umbelliferone). L'intensità della fluorescenza emessa è misurata a 450 nm.

Alla fine del test, i risultati sono analizzati automaticamente dallo strumento che fornisce il valore del test per ogni campione. Questo valore viene comparato a dei valori di riferimento interni (soglie) ed ogni risultato viene interpretato (positivo, negativo).

COMPOSIZIONE DELLA CONFEZIONE (60 determinazioni)

60 cartucce SPT	STR	Pronte per l'uso.
60 coni SPT	SPR	Pronti per l'uso. Coni sensibilizzati con proteine specifiche di antigeni delle <i>Salmonella</i> .
Standard SPT (1 x 6 ml)	S1	Pronto per l'uso. Antigene <i>Salmonella</i> purificato e inattivato + conservante + stabilizzante proteico. L'intervallo di confidenza è indicato sulla scheda MLE con la menzione : "Standard (S1) RFV Range".
Controllo positivo SPT (1 x 6 ml)	C1	Pronto per l'uso. Antigene <i>Salmonella</i> purificato e inattivato + conservante + stabilizzante proteico. L'intervallo di confidenza è indicato sulla scheda MLE con la menzione : "Control C1 (+) Test Value Range".
Controllo negativo (1 x 6 ml)	C2	Pronto per l'uso. Tampone TRIS - NaCl (150 mmol/l) - Tween pH 7,6 + conservante. Il valore massimo accettabile del test è indicato sulla scheda MLE con la menzione : "Control C2 (-) Test Value Range".
1 scheda MLE (Master Lot Entry)		Specifiche dei dati forniti dalla casa produttrice necessari per la calibrazione del test: per la lettura dei dati MLE, far riferimento al Manuale dell'Utilizzatore.
1 scheda tecnica fornita nel kit o scaricabile da www.biomerieux.com/techlib .		

Il cono

Durante la produzione il cono (SPR®) viene sensibilizzato con proteine specifiche di antigeni delle *Salmonella*. Ogni cono è contrassegnato con il codice "SPT". Prelevare soltanto il numero di coni necessari e lasciare i coni inutilizzati nel loro sacchetto. **Richiedere accuratamente il sacchetto dopo l'apertura.**

La cartuccia

La cartuccia è composta da 10 pozzetti ricoperti da un foglio di alluminio sigillato ed etichettato. Sull'etichetta è stampato un codice a barre che indica principalmente il codice del test, il numero di lotto e la data di scadenza della confezione.

L'etichetta, in corrispondenza del primo pozzetto, è ritagliata per facilitare l'introduzione del campione.

L'ultimo pozzetto è una cuvetta che consente la lettura in fluorimetria. I pozzetti intermedi contengono i diversi reattivi necessari all'analisi.

Descrizione della cartuccia SPT

Pozzetti	Reattivi
1	Pozzetto del campione : depositarvi 0,5 ml di brodo di arricchimento, di standard o di controllo.
2	Tampone di prelavaggio (400 µl) : Tampone a pH 7,8 + conservante.
3 - 4 - 5 - 7 - 8 - 9	Tampone di lavaggio (600 µl) : TRIS - NaCl (150 mmol/l) - Tween a pH 7,6 + conservante.
6	Coniugato (400 µl) : Proteine specifiche di antigeni delle <i>Salmonella</i> marcati con fosfatasi alcalina + conservante.
10	Cuvetta di lettura contenente il substrato (300 µl) : 4-Metil-umbelliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina* (DEA) (0,62 mol/l, ossia 6,6 %, pH 9,2) + conservante.

*** Reattivo IRRITANTE :**

- **R 36** : Irritante per gli occhi.

- **S 26** : In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.

Per informazioni più complete consultare la Scheda di Sicurezza, disponibile su richiesta.

REATTIVI, MATERIALI E CONSUMABILI NECESSARI MA NON FORNITI

- Strumento della famiglia VIDAS®.
- Pipette monouso e/o micropipette per la distribuzione dei volumi appropriati.
- VIDAS® Heat and Go (cod. bioMérieux 93554 o 93555 o 93556 : Contattare il rappresentante bioMérieux) o un bagno d'acqua (95-100°C) o un sistema equivalente.
- Miscelatore tipo Stomacher.
- Sacchetti tipo Stomacher con filtro.
- Supplemento *Salmonella* (*Salmonella* SUPP) (cod. bioMérieux 42650)
- Brodo SX2 (cod. bioMérieux 42121, 20 provette).
- Agar chromID™ *Salmonella* (SM2) (cod. bioMérieux 43621 o 43629)

I codici seguenti sono forniti a titolo di esempio.

- Acqua peptonata tamponata
 - sacca da 3 litri (cod. bioMérieux 42629).
 - flacone da 225 ml (cod. bioMérieux 42043).
 - mini-sacca da 225 ml (cod. bioMérieux 42729).
 - flacone da 90 ml (cod. bioMérieux 42042).
 - provetta da 9 ml (cod. bioMérieux 42111).
- Agar selettivi :
 - Esempi :
 - Agar Hektoen (cod. bioMérieux 43111)
 - Agar XLD (cod. bioMérieux 43563)
 - Agar XLT4 (cod. bioMérieux 43701)
- Gallerie
 - API® 20E (Cod. bioMérieux 20 100)
 - o ID 32 E (Cod. bioMérieux 32400)
 - o rapid ID 32 E (Cod. bioMérieux 32700)

Per altri materiali o consumabili specifici, far riferimento al Manuale dell'Utilizzatore dello strumento.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- **Esclusivamente per uso professionale.**
- **Posizionare lo strumento in un locale destinato alle analisi microbiologiche.**
- Rispettare le buone pratiche di laboratorio (ad esempio la norma ISO 7218) (3).
- Questa confezione contiene dei componenti di origine animale. Poiché i controlli sull'origine e/o sullo stato sanitario degli animali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare).
- Non utilizzare i coni il cui sacchetto sia forato.
- Non utilizzare le cartucce visibilmente alterate (foglio di alluminio o plastica danneggiati).
- Non utilizzare i reattivi dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.
- Non mescolare reattivi (o consumabili) di lotti differenti.
- I reattivi della confezione contengono un conservante (sodio azide) suscettibile di reagire con le tubature in piombo o in rame dei lavelli e di formare azidi metalliche esplosive. Si raccomanda di sciacquare con acqua dopo ogni operazione di scarico.
- Il substrato (pozzetto 10 della cartuccia) contiene un agente irritante (dietanolamina al 6,6 %). Prestare attenzione alla frase di rischio "R" ed ai consigli di prudenza "S" sopra riportati.
- In caso di versamento di liquidi si deve trattare con detergenti o con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5 %. Per eliminare liquidi versati all'interno o sull'apparecchio, consultare il Manuale dell'Utilizzatore. Non autoclavare i prodotti trattati con ipoclorito di sodio.
- Lo strumento deve essere regolarmente pulito e decontaminato (consultare il Manuale dell'Utilizzatore).

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

- Conservare la confezione VIDAS® SPT a 2-8°C.
- **Non congelare i reattivi.**
- **Lasciare a 2-8°C i reattivi non utilizzati.**
- All'apertura della confezione, verificare l'integrità e la corretta chiusura dei sacchetti dei coni. In caso contrario, non utilizzare i coni.
- **Per conservare la stabilità dei coni, richiudere accuratamente, dopo ogni utilizzazione, il sacchetto dei coni con il suo disidratante e rimettere tutta la confezione a 2-8°C.**
- Tutti i componenti non aperti della confezione, se correttamente conservati alle condizioni prescritte, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.

CAMPIONI (PREPARAZIONE)

Sono raccomandati i protocolli riportati di seguito.

Prima dell'uso, riportare i brodi di arricchimento a temperatura ambiente (18-25°C).

Protocollo generale per tutti i prodotti per l'alimentazione umana (ad eccezione dei formaggi a base di latte crudo) ed animale e per i campioni degli ambienti di produzione

- Aggiungere in maniera asettica in un sacchetto tipo Stomacher con filtro:
 - X g (X ml) di campione.
 - 9X ml di acqua peptonata tamponata.
 Per certe matrici conviene seguire le tecniche di preparazioni specifiche descritte nelle norme EN ISO da 6887-1 a 6887-5 e EN ISO 6579 (4-9) ed aggiungere il Supplemento *Salmonella* all'arricchimento.
- **Nota 1** : Per il cacao ed i prodotti contenenti cacao, non aggiungere verde brillante.
- **Nota 2** : Per i prodotti acidi non è raccomandata l'aggiunta di un indicatore colorato.
- **Nota 3** : Per i campioni ambientali, il dispositivo di prelievo deve essere preventivamente inumidito con un diluente sterile (ad esempio: acqua peptonata tamponata) contenente, se necessario, un idoneo neutralizzante (per esempio la miscela Lecitina-Polisorbato-L.Istidina-Tiosolfato di sodio). Dopo il prelievo, mettere il dispositivo in un volume appropriato di acqua peptonata tamponata supplementata (ad esempio: tampone in 10 ml, spugnette in 90 ml).
- **Nota 4** : Non sono state saggiate quantità di campione superiori a 25 g.
- Omogeneizzare con un miscelatore tipo Stomacher.
- Aggiungere Y ml di Supplemento *Salmonella* (Cod. 42650) corrispondente a:

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{volume di acqua peptonata tamponata (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Esempi:

- 1 ml per 225 ml di acqua peptonata tamponata
- 400 µl per 90 ml di acqua peptonata tamponata.

Nota 1 : Prima di ogni utilizzazione, omogeneizzare il supplemento con un agitatore tipo vortex.

Nota 2 : Se la diluizione 1:10 con acqua peptonata tamponata viene utilizzata anche per la conta dei microrganismi degli indicatori di qualità, seguire le raccomandazioni della norma ISO 7218 (3). Tener conto di questo prelievo nella pesata iniziale del campione. Il prelievo verrà eseguito prima dell'aggiunta del Supplemento *Salmonella*.

Nota 3 : Nel caso in cui la conta dei microrganismi degli indicatori di qualità non venga eseguita sulla stessa pesata, il supplemento può essere aggiunto direttamente nell'acqua peptonata tamponata.

- Omogeneizzare manualmente il contenuto del sacchetto Stomacher.
- Incubare 18-24 ore a 41,5 ± 1°C.
- Dopo l'incubazione, omogeneizzare il contenuto del sacchetto Stomacher.

Nel caso di utilizzazione del VIDAS® Heat and Go, trasferire 0,5 ml del brodo di arricchimento nel pozzetto del campione della cartuccia. Scaldare per 5 ± 1 minuti (vedere il Manuale VIDAS® Heat and Go). Estrarre la cartuccia e lasciarla raffreddare per 10 minuti.

Nota : Non utilizzare il VIDAS® Heat and Go per le uova ed i campioni di pollame.

Nel caso di utilizzazione di un bagno d'acqua, trasferire 2-3 ml di brodo di arricchimento in una provetta; chiuderla. Scaldare a 95-100°C per 5 ± 1 minuti, raffreddare la provetta. Omogeneizzare il brodo scaldato e trasferirne 0,5 ml nel pozzetto del campione della cartuccia VIDAS®.

- Eseguire il test VIDAS®.
- Confermare i risultati positivi.

Protocollo per i latticini (tra cui i formaggi a base di latte crudo)

- Aggiungere in maniera asettica in un sacchetto tipo Stomacher con filtro:
 - X g (X ml) di campione.
 - 9X ml di acqua peptonata tamponata (brodo di pre-arricchimento).
 Per certe matrici conviene seguire le tecniche di preparazioni specifiche descritte nella norma EN ISO 6887-5 (8) ed aggiungere il Supplemento *Salmonella* all'arricchimento.
- **Nota 1** : Per i prodotti acidi non è raccomandata l'aggiunta di un indicatore colorato.
- **Nota 2** : Non sono state saggiate quantità di campione superiori a 25 g.
- Omogeneizzare con un miscelatore tipo Stomacher.
- Aggiungere Y ml di Supplemento *Salmonella* (Cod. 42650) corrispondente a:

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{volume di acqua peptonata tamponata (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Esempio: 1 ml per 225 ml di acqua peptonata tamponata.

Nota 1 : Prima di ogni utilizzazione, omogeneizzare il supplemento con un agitatore tipo vortex.

Nota 2 : Se la diluizione 1:10 con acqua peptonata tamponata viene utilizzata anche per la conta dei microrganismi degli indicatori di qualità, seguire le raccomandazioni della norma ISO 7218 (3). Tener conto di questo prelievo nella pesata iniziale del campione. Il prelievo verrà eseguito prima dell'aggiunta del Supplemento *Salmonella*.

Nota 3 : Nel caso in cui la conta dei microrganismi degli indicatori di qualità non venga eseguita sulla stessa pesata, il supplemento può essere aggiunto direttamente nell'acqua peptonata tamponata.

- Omogeneizzare manualmente il contenuto del sacchetto Stomacher.
- Incubare 18-24 ore a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Dopo l'incubazione, agitare e trasferire 1 ml della sospensione in 10 ml di brodo SX2 **pre-riscaldato a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$** (brodo di arricchimento).
- Incubare per 6-8 ore a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Dopo l'incubazione omogeneizzare il brodo di arricchimento.

Nel caso di utilizzazione del VIDAS® Heat and Go, trasferire 0,5 ml del brodo di arricchimento nel pozzetto del campione della cartuccia. Scaldare per 5 ± 1 minuti (vedere il Manuale VIDAS® Heat and Go). Estrarre la cartuccia e lasciarla raffreddare per 10 minuti. Nel caso di utilizzazione di un bagno d'acqua, trasferire 1-2 ml di brodo di arricchimento in una provetta; chiuderla. Scaldare a $95-100^\circ\text{C}$ per 5 ± 1 minuti, raffreddare la provetta. Omogeneizzare il brodo scaldato e trasferirne 0,5 ml nel pozzetto del campione della cartuccia VIDAS®.

- Eseguire il test VIDAS®.
- Confermare i risultati positivi.

Conferma dei risultati positivi ottenuti

Ogni risultato positivo ottenuto con il VIDAS® SPT deve essere confermato.

La conferma si esegue partendo dai brodi di arricchimento **non scaldato**.

- Procedere con un isolamento su un agar selettivo.
- Incubare l'agar seguendo le raccomandazioni della scheda tecnica.
- Identificare da 1 a 5 colonie caratteristiche con i test classici descritti nei metodi normalizzati dal CEN o dall'ISO (includendo la fase di purificazione) (4).

In caso di risultati discordanti (positività con il metodo alternativo non confermata con il metodo descritto sopra), il laboratorio dovrà mettere in atto i mezzi necessari per assicurarsi della validità del risultato fornito.

E' raccomandato, per esempio, il seguente protocollo complementare :

- Trasferire 0,1 ml di brodo di arricchimento in 10 ml di brodo SX2.
- Dopo incubazione per 16-24 ore a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$, eseguire un isolamento su agar selettivo.
- Identificare da 1 a 5 colonie caratteristiche con i test classici descritti nei metodi normalizzati dal CEN o dall'ISO (4).

PROCEDIMENTO

Per le istruzioni complete, far riferimento al Manuale dell'Utilizzatore dello strumento.

Memorizzazione dei dati del protocollo VIDAS® PTC

Al momento della prima utilizzazione del test e **prima di leggere i dati MLE**, leggere, con il lettore di codici a barre esterno dello strumento, il(i) codice(i) a barre (inserito(i) alla fine della scheda tecnica). Questa lettura permette di trasferire i dati del protocollo VIDAS® PTC nel software dello strumento per il suo aggiornamento. Questi dati devono essere letti solamente al momento della prima utilizzazione del test.

Registrazione dei dati MLE

Nota : Al momento della prima utilizzazione del test, prima di leggere i dati MLE, inserire il protocollo VIDAS® PTC (codici a barre alla fine della scheda tecnica). Se i dati MLE sono stati letti prima del protocollo VIDAS® PTC, rileggere i dati MLE.

All'apertura di un nuovo lotto, devono essere registrate nello strumento, tramite i dati MLE, le specifiche (dati forniti dal fabbricante) del lotto. Se questa operazione non è stata fatta **prima di avviare gli esami**, lo strumento non potrà fornire i risultati. La registrazione delle specifiche va fatta una sola volta per ogni lotto.

La registrazione dei dati MLE può essere effettuata manualmente od in maniera automatica, a seconda dello strumento (far riferimento al Manuale dell'Utilizzatore).

Calibrazione

La calibrazione, **mediante** lo standard fornito nella confezione, deve essere effettuata all'apertura di ogni nuovo lotto dopo aver inserito le specifiche del lotto e deve essere ripetuta ogni 28 giorni. Questa operazione permette di aggiustare la calibrazione ad ogni strumento ed all'evoluzione eventuale dei reattivi nel tempo.

Lo standard, identificato con la sigla S1, deve essere analizzati **in doppio** (vedere il Manuale dell'Utilizzatore). Il valore dello standard deve essere compreso negli ambiti di RFV ("Relative Fluorescence Value") indicati. In caso contrario occorrerà eseguire una nuova calibrazione.

Esecuzione del test

1. **Prelevare dal frigorifero soltanto i reattivi necessari.**
2. Utilizzare una cartuccia "SPT" ed un cono "SPT" per ogni campione, controllo o standard da analizzare. **Dopo aver prelevato i cono necessari, richiudere accuratamente il sacchetto.**
3. Il test è identificato sullo strumento con il codice "SPT". Lo standard, identificato obbligatoriamente con "S1", dovrà essere inserito **in doppio**.
Se si deve esaminare il controllo positivo, andrà identificato con "C1".
Se si deve esaminare il controllo negativo, dovrà essere identificato con "C2".
4. Omogeneizzare con un agitatore tipo vortex il brodo di arricchimento.
Nel caso di utilizzazione del VIDAS® Heat and Go, trasferire 0,5 ml di brodo di arricchimento nel pozzetto del campione della cartuccia. Scaldare per 5 ± 1 minuti (vedere il Manuale VIDAS® Heat and Go). Estrarre la cartuccia e lasciarla raffreddare per 10 minuti.
Nel caso di utilizzazione di un bagno d'acqua, scaldare a $95-100^\circ\text{C}$ per 5 ± 1 minuti il brodo di arricchimento, raffreddare la provetta. Omogeneizzare il brodo scaldato e trasferirne 0,5 ml nel pozzetto del campione della cartuccia VIDAS®.
5. Se necessario, omogeneizzare con un agitatore tipo vortex lo standard ed i controlli, poi distribuirne **500 µl** nel pozzetto del campione.
Nota : non scaldare lo standard ed i controlli.
6. Posizionare nello strumento i coni e le cartucce. Verificare la concordanza dei codici (colori e lettere) dei coni e delle cartucce.

7. Avviare l'analisi (vedere il Manuale dell'Utilizzatore). Tutte le fasi del procedimento sono quindi gestite automaticamente dallo strumento. I risultati si ottengono in circa 48 minuti.
8. Alla fine dell'analisi estrarre dallo strumento i coni e le cartucce.
9. Eliminare i coni e le cartucce utilizzati in un contenitore idoneo per i rifiuti a rischio biologico, conformemente alla legislazione locale vigente.

RISULTATI E INTERPRETAZIONE

Una volta terminato il test, i risultati vengono analizzati automaticamente dal sistema informatico dello strumento. L'apparecchio esegue per ogni test due misure di fluorescenza nella cuvetta di lettura.

La prima lettura prende in considerazione il rumore di fondo dovuto alla cuvetta contenente il substrato prima del contatto del substrato con il cono.

La seconda lettura è eseguita dopo l'incubazione del substrato con l'enzima presente nel cono.

Il calcolo dell'RFV (Relative Fluorescence Value) è il risultato della differenza delle due misure. Viene stampato sul foglio dei risultati.

L'RFV ottenuto per ogni campione è interpretato dallo strumento nel modo seguente :

$$\text{Valore del test} = \frac{\text{RFV del campione}}{\text{RFV dello standard}}$$

Valore soglia e interpretazione dei risultati

Valore del test	Interpretazione
< 0,25	Negativo
≥ 0,25	Positivo

Sul foglio dei risultati vengono stampati :

- il tipo di test,
- l'identificativo del campione,
- la data e l'ora,
- il numero di lotto e la data di scadenza della confezione,
- l'RFV, il valore del test e l'interpretazione del risultato per ogni campione.

Un risultato con un valore del test inferiore al valore soglia indica un campione che non contiene *Salmonella* o che contiene una concentrazione di *Salmonella* inferiore al limite di rilevazione.

Un risultato con un valore del test superiore od uguale al valore soglia indica un campione contaminato da *Salmonella*. In questo caso far riferimento al paragrafo "Conferma dei risultati positivi".

Si possono ottenere dei risultati non validi :

- quando la lettura del rumore di fondo è superiore ad una soglia predeterminata (indice di una contaminazione del substrato).
In questo caso, ripetere l'esame con il brodo riscaldato o con il reattivo interessato (S1, C1 o C2).
- quando manca la registrazione dello standard per il numero di lotto indicato sulla cartuccia.
In questo caso occorre effettuare una calibrazione in doppio con cartucce aventi lo stesso numero di lotto di quelle del test non valido; il risultato potrà essere ricalcolato utilizzando questi nuovi standard registrati. Per informazioni più complete, consultare il Manuale dell'Utilizzatore.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Un controllo positivo e un controllo negativo sono inclusi in ogni confezione VIDAS® SPT.

Questi controlli devono essere utilizzati al ricevimento di ogni nuovo lotto per verificare la calibrazione (vedere il paragrafo calibrazione).

Si raccomanda inoltre di utilizzare questi controlli al ricevimento di ogni nuova confezione, al fine di verificare l'assenza di alterazioni dei reattivi.

Affinché lo strumento possa verificare il valore dei controlli, occorre identificarli con C1 e C2.

Se il valore dei controlli si discosta dai valori attesi, i risultati non possono essere validati.

Nota

E' responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il controllo di qualità sia eseguito conformemente a quanto previsto dalla legislazione locale vigente.

LIMITI DEL METODO

Le performance di questo sistema non sono state definite per usi diversi da quelli descritti nella documentazione, nella scheda tecnica o nel Manuale dell'Utilizzatore.

Ogni cambiamento o modifica nella procedura potrà avere una incidenza sui risultati.

Attenzione

Il parametro VIDAS® SPT è stato valutato su numerosi prodotti. Tuttavia, tenuto conto della diversità dei prodotti e dei processi di fabbricazione, è raccomandato di verificare che la composizione delle matrici testate non alteri l'affidabilità dei risultati VIDAS® SPT.

Il sistema VIDAS® Heat and Go è stato valutato su numerose matrici alimentari. Tuttavia, tenuto conto della diversità dei prodotti e dei processi di fabbricazione, è raccomandato di verificare, durante i primi esami, che il riscaldamento non causi coagulazioni o precipitazioni importanti nel pozzetto del campione che potrebbero provocare un pipettamento non corretto.

PERFORMANCE

I seguenti dati di performance sono stati definiti nelle valutazioni esterne:

443 campioni (233 negativi, 210 positivi di cui 98 contaminati naturalmente) sono stati testati in parallelo con il VIDAS® SPT e con il metodo EN ISO 6579 (9).

- Positivi supplementari VIDAS® SPT: 1
- Falsi negativi VIDAS® SPT: 1
- Risultati concordanti: 441

Tutti questi risultati sono stati ottenuti con i terreni di coltura bioMérieux.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI








Smaltire i reattivi utilizzati o non utilizzati ed i materiali monouso contaminati seguendo le procedure relative ai prodotti infettivi o potenzialmente infettivi.

E' responsabilità di ogni laboratorio gestire i rifiuti e gli effluenti prodotti a seconda della loro natura e della loro pericolosità ed assicurarne (o farne assicurare) il trattamento e lo smaltimento conformemente alla legislazione vigente.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. KERR S., BALL H. J., MACKIE D.P., et al. - Diagnostic application of monoclonal antibodies to outer membrane protein for rapid detection of *Salmonella* - *Journal of Applied Bacteriology* - 1992, vol. 72, p. 302-308.
2. LE MINOR, L. - *Salmonella* lignieres - In KRIEG N.R. and HOLT J.G. - *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* - Ed. Williams and Wilkins - Baltimore, MD., 1984 - vol. 1, p. 427-458
3. *Microbiologie des aliments - Exigences générales et recommandations* - ISO 7218 – 2007
4. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.* - EN ISO 6887-1 - 1999.
5. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 2 : Règles spécifiques pour la préparation des viandes et des produits carnés.* - EN ISO 6887-2 - 2004
6. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 3 : Règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche.* - EN ISO 6887-3 - 2004
7. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 4 : Règles spécifiques pour la préparation des produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche.* - EN ISO 6887-4 - 2004
8. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 5 : Règles spécifiques pour la préparation du lait et des produits laitiers* - EN ISO 6887-5 - 2010.
9. *Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des Salmonella spp.* - EN ISO 6579 - 2002.


TABELLA DEI SIMBOLI

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Fabbricante
	Limiti di temperatura
	Utilizzare entro
	Codice del lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Contenuto sufficiente per "n" saggi

BIOMERIEUX, il logo blu, VIDAS, SPR, chromID e API sono marchi utilizzati, depositati e/o registrati di proprietà di bioMérieux SA o di una delle sue filiali. Stomacher è un marchio di proprietà di Seward Ltd.

Gli altri marchi e nomi di prodotti menzionati in questo documento sono marchi commerciali dei loro rispettivi detentori.



 **bioMérieux SA**
 RCS LYON 673 620 399
 69280 Marcy-l'Etoile / France
 Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90
 www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
 Box 15969,
 Durham, NC 27704-0969 / USA
 Tél. (1) 919 620 20 00
 Fax (1) 919 620 22 11

VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT)

Exclusivamente para controlo microbiológico

Baseado na tecnologia de reconhecimento específico por fago, VIDAS[®] UP *Salmonella* é um teste qualitativo automatizado nos aparelhos da família VIDAS[®]. Este teste permite a detecção das *Salmonella* nos produtos de alimentação humana, animal e nas amostras de ambiente de produção.

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

A *Salmonella* é um dos principais agentes das intoxicações alimentares e a sua pesquisa por protocolos fastidiosos pode levar até 5 dias para assegurar a sua ausência numa amostra (1). Os imunoenaios enzimáticos (EIA) baseados nas técnicas de rastreio podem contribuir para acelerar e simplificar a detecção.

As *Salmonella* formam um grupo antigénico complexo com mais de 2400 serotipos diferenciados por antígenos somáticos (O) de natureza lipopolisacáridica, e antígenos flagelares (H) de natureza proteica (2).

Graças a uma tecnologia inovadora baseada em proteínas recombinantes de fago, o teste VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT) permite a detecção específica das *Salmonella* em produtos de alimentação humana, animal e nas amostras de ambiente de produção. Permite a detecção das estirpes/cepas móveis e imóveis de *Salmonella*.

PRINCÍPIO

O VIDAS[®] SPT é um teste imunoenzimático que permite a detecção de antígenos de *Salmonella* pelo método ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) com o aparelho da família VIDAS[®] (consultar o Manual do Utilizador).

O cone (SPR[®]) de utilização única serve tanto de fase sólida como de suporte de pipetagem. O interior do cone está coberto por proteínas específicas de antígenos de *Salmonella*. Os outros reagentes da reacção ELFA estão prontos a usar e distribuídos na barrete.

Todas as etapas do teste são realizadas automaticamente pelo aparelho. São constituídas por uma sucessão de ciclos de aspiração e dispensação do meio reaccional.

Uma parte do caldo de enriquecimento é colocado na barrete. Os antígenos de *Salmonella* presentes vão fixar-se no interior do cone. Os elementos livres são eliminados por lavagem. Em seguida, as proteínas conjugadas com fosfatase alcalina são aspiradas e dispensadas no cone e vão fixar-se aos antígenos de *Salmonella*, estes já fixados na parede do cone.

Novas etapas de lavagem eliminam o conjugado não fixado.

Na etapa final de revelação, o substrato (4-Metilumbeliferil fosfato) é aspirado e depois dispensado no cone; a enzima do conjugado catalisa a reacção de hidrólise deste substrato num produto (4-Metilumbeliferona) cuja fluorescência emitida e medida a 450 nm.

Terminado o teste, os resultados são analisados automaticamente pelo aparelho que fornece um valor de teste para cada amostra. Este valor é comparado com referências internas (limites) e cada resultado é interpretado (positivo, negativo).

COMPOSIÇÃO DA EMBALAGEM (60 testes)

60 barretes SPT	STR	Prontas a usar.
60 cones SPT	SPR	Prontos a usar. Cones sensibilizados por proteínas específicas de antígenos das <i>Salmonella</i> .
Calibrador SPT (1 x 6 ml)	S1	Pronto a usar. Antígeno purificado e inactivado de <i>Salmonella</i> + conservante + estabilizante proteico. O intervalo de confiança está indicado no cartão MLE com a indicação: "Standard (S1) RFV Range".
Controlo positivo SPT (1 x 6 ml)	C1	Pronto a usar. Antígeno purificado e inactivado de <i>Salmonella</i> + conservante + estabilizante proteico. O intervalo de confiança está indicado no cartão MLE com a indicação: "Control C1 (+) Test Value Range".
Controlo negativo (1 x 6 ml)	C2	Pronto a usar. Tampão TRIS - NaCl (150 mmol/l) - Tween pH 7,6 + conservante. O valor máximo aceitável do teste está indicado no cartão MLE com a indicação: "Control C2 (-) Test Value Range".
1 cartão MLE (Master Lot Entry)		Especificações dos dados de fabrico necessários para a calibração do teste: consultar o Manual de Utilização para a leitura.
1 folheto informativo na embalagem ou a partir de www.biomerieux.com/techlib		

O cone

O cone (SPR®) é sensibilizado na altura do fabrico por proteínas específicas dos antigénios de *Salmonella*.

Cada cone está identificado pelo código "SPT". Utilizar apenas o número de cones necessário e deixar os restantes na saqueta/sachet. **Fechar completamente a saqueta/sachet após abertura.**

A barrete

A barrete é composta por 10 poços cobertos por uma folha de alumínio selada e etiquetada. A etiqueta tem um código de barras com informação relativa ao código do teste, ao número de lote e à data de validade da embalagem.

O primeiro poço contém uma parte perfurada para facilitar a introdução da amostra.

O último poço é uma cuvete que permite a leitura em fluorimetria.

Os poços intermédios contêm os diferentes reagentes necessários à análise.

Descrição da barrete SPT

Poços	Reagentes
1	Poço-amostra: introduzir 0,5 ml de caldo de enriquecimento, calibrador ou controlo.
2	Tampão de pré-lavagem (400 µl) : Tampão pH 7,8 + conservante.
3 - 4 - 5 - 7 - 8 - 9	Tampão de lavagem (600 µl) : TRIS – NaCl (150 mmol/l) – Tween pH 7,6 + conservante.
6	Conjugado (400 µl): Proteínas específicas de antigénios das <i>Salmonella</i> marcadas com fosfatase alcalina + conservante.
10	Cuvete de leitura com substrato (300 µl) : 4-Metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina* (DEA) (0,62 mol/l, ou seja, 6,6%, pH 9,2) + conservante.

*** Reagente IRRITANTE:**

- **R 36:** irritante para os olhos.

- **S 26:** em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico.

Para mais informações, consultar a ficha de segurança disponível a pedido.

REAGENTES, MATERIAIS E CONSUMÍVEIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Aparelho da família VIDAS®
- Pipetas descartáveis e/ou micropipetas que permitem a distribuição de volumes apropriados
- VIDAS® Heat and Go (Ref. bioMérieux 93554 ou 93555 ou 93556 : Contactar o representante da bioMérieux) ou banho-maria (95° - 100° C) ou sistema equivalente
- Triturador tipo Stomacher
- Saco do tipo Stomacher com filtro
- Suplemento *Salmonella* (*Salmonella* SUPP) (ref. bioMérieux 42650)
- Caldo SX2 (ref. bioMérieux 42121, 20 tubos)
- Gelose chromID™ *Salmonella* (SM2) (ref. bioMérieux 43621 ou 43629)

As referências abaixo são fornecidas a título de exemplo.

- Água peptonada tamponada
 - saco de 3 litros (ref. bioMérieux 42629)
 - frasco de 225 ml (ref. bioMérieux 42043)
 - mini-saco de 225 ml (ref. bioMérieux 42729)
 - frasco de 90 ml (ref. bioMérieux 42042)
 - tubo de 9 ml (ref. bioMérieux 42111).
- Geloses selectivas:

Exemplos :

 - Gelose Hektoen (ref. bioMérieux 43111)
 - Gelose XLD (ref. bioMérieux 43563)
 - Gelose XLT4 (ref. bioMérieux 43701)
- Galeria
 - API® 20E (Ref. bioMérieux 20 100)
 - ou ID 32 E (Ref. bioMérieux 32400)
 - ou rapid ID 32 E (Ref. bioMérieux 32700)

Para outros materiais e consumíveis específicos, consultar o Manual de Utilizador do aparelho.

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- **Unicamente para uso profissional.**
- **Colocar o aparelho num local destinado à análise microbiológica.**
- Respeitar as boas práticas de laboratório (exemplo norma ISO 7218) (3)
- Este dispositivo contém componentes de origem animal. O controlo da origem e/ou do estado sanitário dos animais não podem garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível, é aconselhado manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (não ingerir; não inalar).
- Não utilizar os cones se a saqueta/sachet estiver danificada.
- Não utilizar barretes visivelmente alteradas (folha de alumínio ou de plástico danificada).
- Não utilizar os reagentes após a data de validade indicada na etiqueta da embalagem.
- Não utilizar os reagentes (ou consumíveis) provenientes de números de lote diferentes.
- Os reagentes da embalagem contêm um conservante (azida sódica), susceptível de reagir com as canalizações de chumbo ou de cobre dos lavatórios formando azidas metálicas explosivas. É aconselhado passar por água qualquer produto de rejeição.
- O substrato (poço nº 10 da barrete) contém um agente irritante (dietanolamina a 6,6%). Ter conhecimento da frase de risco "R" e dos conselhos de prudência "S" citados acima.

- As projecções devem ser tratadas com um líquido detergente ou com uma solução contendo, pelo menos, 0,5 % de hipoclorito de sódio. Consultar o Manual de Utilização para eliminar as projecções sobre ou no interior do aparelho. Não autoclavar produtos que contenham lixívia/água sanitária.
- O aparelho deve ser regularmente limpo e descontaminado (consultar o Manual de Utilização).

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

- Conservar a embalagem VIDAS® SPT a 2° - 8° C.
- **Não congelar os reagentes.**
- **Deixar a 2° - 8° C os reagentes não utilizados.**
- Na abertura da embalagem, verificar se a(s) saqueta(s) dos cones está bem fechada(s) e se não está(ão) danificada(s). Caso contrário, não utilizar os cones.
- **Após cada utilização, fechar completamente a saqueta/sachet com o desidratante para manter a estabilidade dos cones e colocar novamente a embalagem a 2° - 8° C.**
- Todos os componentes não abertos permanecem estáveis até à data de validade indicada na etiqueta da embalagem, se forem conservados nas condições exigidas.

AMOSTRAS (PREPARAÇÃO)

São recomendados os seguintes protocolos. Deixar os caldos de enriquecimento atingir a temperatura ambiente (18° - 25° C) antes da utilização.

Protocolo geral para todos os produtos de alimentação humana (excepto queijos de leite cru) e animal e amostras de ambiente de produção

- Adicionar assepticamente num saco tipo Stomacher com filtro:
 - X g (X ml) da amostra.
 - 9X ml de água peptonada tamponada.
 Para algumas matrizes, é conveniente seguir as técnicas de preparação específicas descritas nas normas EN ISO 6887-1 a 6887-5 e EN ISO 6579 (4-9) adicionando o Suplemento de *Salmonella* ao enriquecimento.

Nota 1: Para o cacau e os produtos que contenham cacau, não adicionar verde brilhante.

Nota 2: Para os produtos ácidos, a adição de um indicador de cor não é aconselhado.

Nota 3: Para as amostras de ambiente, o suporte de colheita/coleta deve ser humedecido previamente com um diluente estéril (exemplo: água peptonada tamponada) que contenha, se necessário, um neutralizante adaptado (por exemplo, a mistura Lecitina-Polisorbato-L.Histidina-Tiosulfato de sódio). Após a colheita/coleta, colocar o suporte num volume apropriado de água peptonada tamponada suplementada (por exemplo: zaragatoa/swab em 10 ml, pequeno pano em 90 ml).

Nota 4: As amostras superiores a 25 g não foram testadas.
- Homogeneizar utilizando um triturador tipo Stomacher.

- Adicionar Y ml de Suplemento *Salmonella* (Ref. 42650) que corresponde a:

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{volume de água peptonada tamponada (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Exemplos:

- 1 ml para 225 ml de água peptonada tamponada
- 400 µl para 90 ml de água peptonada tamponada.

Nota 1: Homogeneizar o suplemento, utilizando um agitador tipo vortex, antes de cada utilização.

Nota 2: Se a diluição a 1/10 em água peptonada tamponada é também utilizada para a contagem dos indicadores de qualidade, seguir as recomendações da norma ISO 7218 (3). Ter em conta esta colheita/coleta no peso inicial da amostra. A amostra será efectuada antes da adição do Suplemento *Salmonella*.

Nota 3: O suplemento pode ser adicionado directamente em água peptonada tamponada no caso em que a contagem dos indicadores de qualidade não foi efectuada com o mesmo peso.

- Homogeneizar manualmente o conteúdo do saco Stomacher.
- Incubar 18-24 horas a 41,5 ± 1°C.
- Após incubação, homogeneizar o conteúdo do saco Stomacher.

Em caso de utilização de VIDAS® Heat and Go, transferir 0,5 ml do caldo de enriquecimento para o poço amostra da barrete. Aquecer durante 5 ± 1 minutos (consultar o Manual VIDAS® Heat and Go). Retirar a barrete e deixar arrefecer durante 10 minutos.

Nota: Não utilizar o VIDAS® Heat and Go para produtos à base de ovos e amostras de aves de capoeira.

Em caso de utilização de um banho-maria, transferir 2-3 ml do caldo de enriquecimento para um tubo. Fechá-lo. Aquecer a 95° - 100° C durante 5 ± 1 minutos, arrefecer o tubo. Homogeneizar o caldo aquecido e transferir 0,5 ml para o poço-amostra da barrete VIDAS®.

- Efectuar o teste VIDAS®.
- Confirmar os resultados positivos.

Protocolo para os produtos lácteos (incluindo os queijos de leite cru)

- Adicionar assepticamente para um saco tipo Stomacher com filtro:
 - X g (X ml) da amostra.
 - 9X ml de água peptonada tamponada (caldo de pré-enriquecimento).
 Para algumas matrizes, convém seguir as técnicas de preparação específicas descritas na norma 6887-5 (8) adicionando o Suplemento *Salmonella* ao enriquecimento.

Nota 1: Para os produtos ácidos, a adição de um indicador de cor não é recomendada.

Nota 2: As amostras superiores a 25 g não foram testadas.
- Homogeneizar utilizando um triturador tipo Stomacher.

- Adicionar Y ml de Suplemento *Salmonella* (Ref. 42650) que corresponde a :

$$Y \text{ (ml)} = \frac{\text{volume de água peptonada tamponada (ml)}}{225 \text{ (ml)}}$$

Exemplo: 1 ml para 225 ml de água peptonada tamponada.

Nota 1: Homogeneizar o suplemento, utilizando um agitador tipo vortex, antes de cada utilização.

Nota 2: Se a diluição a 1/10 em água peptonada tamponada também for utilizada para a contagem dos indicadores de qualidade, seguir as recomendações da norma ISO 7218 (3). Ter em conta esta colheita/coleta no peso inicial da amostra. A colheita/coleta será efectuada antes da adição do Suplemento *Salmonella*.

Nota 3: O suplemento pode ser adicionado directamente em água peptonada tamponada no caso da contagem dos indicadores de qualidade não ter sido efectuada com o mesmo peso.

- Homogeneizar manualmente o conteúdo do saco Stomacher.
- Incubar 18-24 horas a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Após incubação, agitar e transferir 1 ml da suspensão em 10 ml de caldo SX2 **pré-aquecido a $41,5^\circ \pm 1^\circ\text{C}$** (caldo de enriquecimento).
- Incubar 6-8 horas a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Após incubação, homogeneizar o caldo de enriquecimento.

Em caso de utilização de VIDAS® Heat and Go, transferir 0,5 ml do caldo de enriquecimento para o poço-amostra da barrete. Aquecer durante 5 ± 1 minutos (consultar o manual VIDAS® Heat and Go). Retirar a barrete e deixá-la arrefecer durante 10 minutos.

Em caso de utilização de um banho-maria, transferir 1-2 ml do caldo de enriquecimento num tubo. Fechá-lo. Aquecer a $95^\circ - 100^\circ\text{C}$ durante 5 ± 1 minutos, arrefecer o tubo. Homogeneizar o caldo aquecido e transferir 0,5 ml para o poço-amostra da barrete VIDAS®.

- Efectuar o teste VIDAS®.
- Confirmar os resultados positivos.

Confirmação dos resultados positivos obtidos

Qualquer resultado positivo obtido com VIDAS® SPT deve ser confirmado.

A confirmação faz-se a partir do caldo de enriquecimento **não aquecido**.

- Efectuar um isolamento em gelose selectiva.
- Incubar a gelose em conformidade com as recomendações do folheto informativo.
- Identificar 1 a 5 colónias características segundo os testes clássicos descritos nos métodos normalizados pelo CEN ou ISO (incluindo a etapa de purificação) (4).

Em caso de resultados discordantes (positivo pelo método alternativo não confirmado pela opção descrita acima), o laboratório deverá implementar os meios suficientes para assegurar a validade do resultado fornecido.

É aconselhado por exemplo o protocolo complementar seguinte:

- Transferir 0,1 ml do caldo de enriquecimento em 10 ml de caldo SX2.
- Após incubação durante 16-24 horas a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$, efectuar um isolamento em gelose selectiva.
- Identificar 1 a 5 colónias características segundo os testes clássicos descritos nos métodos normalizados pelo CEN ou ISO (4).

PROCEDIMENTO

Para instruções completas, consultar o Manual de Utilização do aparelho.

Introdução dos dados do protocolo VIDAS® PTC

Na primeira utilização do teste e **antes de ler os dados MLE**, ler o(s) código(s)-de-barras que se encontra(m) no final do folheto informativo) utilizando o leitor de códigos de barras externo do aparelho. Esta leitura permite transferir os dados do protocolo VIDAS® PTC do programa do aparelho para a sua actualização. Estes dados devem ser lidos apenas na primeira utilização do teste.

Introdução dos dados MLE

Nota: Na primeira utilização do teste, introduzir o protocolo VIDAS® PTC (códigos de barras no final do folheto informativo) antes de ler os dados MLE. Se os dados MLE tiverem sido lidos antes do protocolo VIDAS® PTC, ler novamente os dados MLE.

Na abertura de um novo lote, as especificações (ou dados de fabrico) devem ser introduzidos no aparelho utilizando os dados MLE. Se esta operação não tiver sido efectuada **antes de começar os testes**, o aparelho não poderá editar os resultados. Estas especificações introduzem-se uma única vez para cada lote.

É possível introduzir os dados MLE manual ou automaticamente dependendo do aparelho (consultar o Manual de Utilização).

Calibração

A calibração, **utilizando** o calibrador fornecido na embalagem deve ser efectuada na abertura de cada novo lote após introdução das especificações do lote e depois todos os 28 dias. Esta operação permite ajustar a calibração a cada aparelho e à evolução eventual do reagente no decorrer do tempo.

O calibrador, identificado por S1 será analisado em **duplicado** (consultar o Manual de Utilização). O valor do calibrador deve estar compreendido nos limites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fixados. Se não for o caso: efectuar uma nova calibração.

Realização do teste

1. **Tirar do frigorífico apenas os reagentes necessários.**
2. Utilizar uma barrete "SPT" e um cone "SPT" para cada amostra, controlo ou calibrador a testar. **Verificar se a saqueta/sachet de cones foi completamente fechada após cada utilização.**
3. O teste é identificado pelo código "SPT" no aparelho. O calibrador identificado obrigatoriamente por "S1" deve ser utilizado em **duplicado**.
Se o controlo positivo tiver de ser testado, será identificado por "C1".
Se o controlo negativo tiver de ser testado, será identificado por "C2".

4. Homogeneizar utilizando um agitador tipo vortex o caldo de enriquecimento.

No caso de utilização de VIDAS® Heat and Go, transferir 0,5 ml do caldo de enriquecimento para o poço-amostra da barrete. Aquecer durante 5 ± 1 minutos (consultar o Manual VIDAS® Heat and Go). Retirar a barrete e deixá-la arrefecer durante 10 minutos.

Em caso de utilização do banho-maria, aquecer o caldo de enriquecimento 5 ± 1 minutos a $95^\circ - 100^\circ \text{C}$, arrefecer o tubo. Homogeneizar o caldo aquecido e transferir 0,5 ml para o poço-amostra da barrete VIDAS®.

5. Se necessário, homogeneizar utilizando um agitador tipo vortex o calibrador e os controlos e seguida distribuir **500 µl** para o poço-amostra.

Nota : Não aquecer o calibrador e os controlos.

6. Colocar no aparelho os cones e as barretes. Verificar a concordância dos códigos (cores e letras) entre o cone e a barrete.
7. Iniciar a análise (consultar o Manual de Utilização). Todas as etapas são geridas automaticamente pelo aparelho. Os resultados obtêm-se em, aproximadamente, 48 minutos.
8. Terminada a análise, retirar os cones e as barretes do aparelho.
9. Eliminar os cones e barretes utilizados para um recipiente apropriado para os resíduos de risco biológico em conformidade com a legislação local em vigor.

RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO

Terminado o teste, os resultados são analisados automaticamente pelo sistema informático.

O aparelho efectua duas medidas de fluorescência na cuvete de leitura para cada teste.

A primeira leitura corresponde ao branco da cuvete antes de entrar em contacto com o substrato do cone.

A segunda leitura é efectuada após incubação do substrato com a enzima presente no cone.

O cálculo do RFV (Relative Fluorescence Value) é o resultado da diferença das duas medições. Este aparece na folha de resultados.

O RFV obtido para cada amostra é interpretado pelo aparelho da seguinte forma:

$$\text{Valor do teste} = \frac{\text{RFV amostra}}{\text{RFV calibrador}}$$

Limite e interpretação dos resultados

Valor do teste	Interpretação
< 0,25	Negativa
≥ 0,25	Positiva

São impressos na folha de resultados:

- o tipo de teste,
- a identificação da amostra,
- a data e a hora,
- o número de lote e o prazo de validade da embalagem,
- o RFV, o valor do teste e a interpretação deos resultados para cada amostra.

Um resultado com um valor de teste inferior ao valor limiar indica uma amostra que não contém *Salmonella* ou contém uma concentração de *Salmonella* inferior ao limite de detecção.

Um resultado com um valor de teste superior ou igual ao valor limiar indica uma amostra contaminada com *Salmonella*. Neste caso, consultar o parágrafo "Confirmação dos resultados positivos".

Pode aparecer um resultado inválido quando:

- a leitura do branco for superior a um limiar predeterminado (que indica uma contaminação do substrato).

Neste caso, repetir o teste com o caldo aquecido ou com o reagente utilizado (S1, C1 ou C2).

- Não há calibrador registado para o número de lote indicado na barrete.

Neste caso, efectuar uma calibração em duplicado com barretes com o mesmo número de lote que o teste inválido. O resultado pode então ser novamente calculado utilizando estes novos calibradores registados. Consultar o Manual de Utilização para informações mais completas.

CONTROLO DE QUALIDADE

Estão incluídos um controlo positivo e um controlo negativo em cada embalagem VIDAS® SPT.

Estes controlos devem ser utilizados na recepção de cada novo lote para verificar a calibração (consultar o parágrafo calibração).

É também recomendado utilizar estes controlos em cada nova recepção de embalagens para verificar a ausência de alteração dos reagentes.

Para que o aparelho possa verificar o valor dos controlos, é necessário identificá-los por C1 e C2.

Se o valor dos controlos se afastar dos valores esperados, os resultados não podem ser validados.

Nota

É da responsabilidade do utilizador assegurar que o controlo de qualidade é efectuado em conformidade com a legislação local em vigor.

LIMITES DO TESTE

O comportamento funcional deste sistema não foi estabelecido para outra utilização que não a descrita na documentação, folheto informativo ou Manual de Utilização. Qualquer alteração ou modificação ao procedimento poderá ter uma incidência nos resultados.

Atenção

O parâmetro VIDAS® SPT foi avaliado com inúmeros produtos. No entanto, tendo em conta a diversidade dos produtos e procedimentos de fabrico, é aconselhado verificar que a composição das matrizes testadas não altera a fiabilidade dos resultados VIDAS® SPT.

O sistema VIDAS® Heat and Go foi avaliado com inúmeras matrizes alimentares. No entanto, tendo em conta a diversidade dos produtos e procedimentos de fabrico, é aconselhado nas primeiras análises verificar que o aquecimento não provoca coagulação ou precipitação importante no poço-amostra que pode conduzir a uma pipetagem incorrecta.

COMPORTAMENTO FUNCIONAL

No âmbito de avaliações externas, foi estabelecido o comportamento funcional seguinte:

Foram testadas 443 amostras (233 negativas, 210 positivas das quais 98 naturalmente contaminadas) em paralelo com o VIDAS® SPT e o método EN ISO 6579 (9).

- Positivo suplementar VIDAS® SPT: 1
- Falsos negativos VIDAS® SPT: 1
- Resultados concordantes: 441

O conjunto destes resultados foi obtido com os meios de cultura da bioMérieux.

ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

Eliminar os reagentes utilizados ou não utilizados, bem como os materiais descartáveis contaminados em conformidade com os procedimentos relativos aos produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.








É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos e os efluentes que este produz consoante a sua natureza e o seu perigo, e assegurar (ou fazer assegurar) o tratamento e a eliminação em conformidade com as regulamentações aplicáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. KERR S., BALL H. J., MACKIE D.P., et al. - Diagnostic application of monoclonal antibodies to outer membrane protein for rapid detection of *Salmonella* - *Journal of Applied Bacteriology* - 1992, vol. 72, p. 302-308.
2. LE MINOR, L. - *Salmonella* ligninieres - In KRIEG N.R. and HOLT J.G. - *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* - Ed. Williams and Wilkins - Baltimore, MD., 1984 - vol. 1, p. 427-458
3. *Microbiologie des aliments - Exigences générales et recommandations* - ISO 7218 - 2007
4. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.* - EN ISO 6887-1 - 1999.
5. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 2 : Règles spécifiques pour la préparation des viandes et des produits carnés.* - EN ISO 6887-2 - 2004
6. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 3 : Règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche.* - EN ISO 6887-3 - 2004
7. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 4 : Règles spécifiques pour la préparation des produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche.* - EN ISO 6887-4 - 2004

8. *Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 5 : Règles spécifiques pour la préparation du lait et des produits laitiers* - EN ISO 6887-5 - 2010.
9. *Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.* - EN ISO 6579 - 2002.

QUADRO DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
	Referência de catálogo
	Fabricante
	Limites de temperatura
	Prazo de validade
	Código de lote
	Consultar as instruções de utilização
	Conteúdo suficiente para "n" testes

Brasil: Distribuído por bioMérieux Brasil, S.A. - Estrada do Mapuá, 491 - Jacarepaguá - R.J. - CEP 22710-261

CNPJ: 33.040.635/0001-71

Atendimento ao Consumidor Tel.: 0800-264848

Prazo de Validade, N° de Lote e Responsável Técnico:

VIDE EMBALAGEM

A BIOMERIEUX, o logótipo azul, VIDAS, SPR, chromID e API são marcas utilizadas, depositadas e/ou registadas, propriedade exclusiva da bioMérieux SA ou de uma das suas filiais.

Stomacher é uma marca da propriedade da Seward Ltd.

As outras marcas e nomes de produtos mencionados neste documento são marcas comerciais dos respectivos proprietários.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Étoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT)

Wyłącznie do kontroli mikrobiologicznej

Oparta na specyficznej technologii wychwytywania fagowego, VIDAS[®] UP *Salmonella* jest automatycznym testem jakościowym do użycia w aparatach rodziny VIDAS[®] do wykrywania *Salmonella* w produktach żywnościowych dla ludzi i zwierząt i próbek środowiska produkcyjnego.

STRESZCZENIE I WPROWADZENIE

Salmonella jest jedną z głównych przyczyn zatruc pokarmowych. Potwierdzenie nieobecności bakterii *Salmonella* w próbce może trwać do 5 dni (1). Metoda skriningu z zastosowaniem testu immunoenzymatycznego (EIA) - może znacznie uprościć i przyspieszyć wykrycie.

Salmonella jest złożona antygenowo, obejmuje ponad 2400 odmian serologicznych różniących się lipopolisacharydowymi antygenami somatycznymi (O) i białkowymi antygenami rzęskowymi H (2).

Dzięki innowacyjnej technologii zawierającej rekombinowane proteiny fagowe, oznaczenie VIDAS[®] UP *Salmonella* (SPT) umożliwia specyficzne wykrycie *Salmonella* w produktach żywnościowych dla ludzi i zwierząt i próbkach środowiska produkcji. Wykrywane są zarówno ruchliwe, jak i nieruchliwe *Salmonella*.

ZASADA

VIDAS[®] SPT jest oznaczeniem immunoenzymatycznym do użycia w aparatach rodziny VIDAS[®] (patrz Podręcznik Użytkownika) do wykrywania antygenów *Salmonella* z wykorzystaniem metody ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

Pipetki SPR[®] są stałym nośnikiem i służą jako narzędzia pipetujące. Wewnętrzne ścianki SPR[®] opłaszczane są proteinami specyficznymi dla antygenów *Salmonella*. Odczynniki potrzebne do badania są gotowe do użycia i zawarte w szczelnie zamkniętych paskach testowych.

Wszystkie etapy badania są wykonywane automatycznie przez aparat. Medium reakcyjne jest kilkakrotnie cyklicznie podciągane i wypuszczane przez SPR[®].

Część bulionu wzbogacającego jest odmierzona do paska testowego. Obecne antygeny *Salmonella* będą łączyły się z wnętrzem pipetki SPR[®]. Niezwiązane elementy usuwane są podczas płukania. Proteiny związane z fosfatazą alkaliczną są cyklicznie podciągane i wypuszczane przez SPR[®] i przyłączają się do antygenów *Salmonella*, które są przyłączone do ściany SPR[®].

W czasie ostatniego płukania usuwany jest nieprzyłączony koniugat.

Podczas ostatniego etapu do i z SPR[®] cyklicznie wprowadzany jest i pobierany substrat (fosforan-4-metylo-umbelliferylu). Koniugat enzymu katalizuje hydrolizę tego substratu do produktu fluorescencyjnego (4-metylo-umbelliferonu), którego fluorescencję mierzy się przy długości fali 450 nm.

Pod koniec oznaczenia, wyniki są automatycznie analizowane przez urządzenie, które oblicza wartość dla każdej próby. Wartość ta jest wówczas porównywana z założonymi wartościami progowymi i każdy wynik jest interpretowany (dodatni lub ujemny).

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU (60 testów)

60 pasków SPT	STR	Gotowe do użycia.
60 SPT SPR [®]	SPR	Gotowe do użycia. Wnętrze pipetek SPR [®] opłaszczane jest proteinami specyficznymi dla antygenów <i>Salmonella</i> .
Standard SPT (1 x 6 ml)	S1	Gotowe do użycia. Oczyszczony i inaktywowany antygen <i>Salmonella</i> + konserwant + stabilizator białkowy. Przedział ufności wskazany jest na karcie MLE po następującym stwierdzeniu: "Standard (S1) RFV Range".
Kontrola dodatnia SPT (1 x 6 ml)	C1	Gotowe do użycia. Oczyszczony i inaktywowany antygen <i>Salmonella</i> + konserwant + stabilizator białkowy. Przedział ufności wskazany jest na karcie MLE po następującym stwierdzeniu: "Control C1 (+) Test Value Range".
Kontrola ujemna (1 x 6 ml)	C2	Gotowe do użycia. TRIS buforowany chlorkiem sodu (TBS) (150 mmol/l) - Tween pH 7.6 + konserwant. Maksymalna akceptowana wartość testu jest wskazana na karcie MLE po następującym stwierdzeniu: "Control C2 (-) Test Value Range".
1 karta MLE (Master Lot Entry)		Arkusze specyfikacji zawierający fabryczne dane kalibracyjne wymagane do skalibrowania testu: do odczytania danych MLE, proszę odnieść się do Podręcznika Użytkownika.
1 ulotka techniczna dostarczona w zestawie lub do pobrania ze strony www.biomerieux.com/techlib		

Pipetka SPR®

Wnętrze pipetki SPR® w czasie produkcji jest opłaszczane proteinami specyficznymi dla antygenów *Salmonella*. Każda pipetka SPR® jest oznaczona kodem "SPT". Należy wyjmować z torebki tylko potrzebną ilość SPR®, a potem ją dokładnie zamknąć.

Pasek testowy

Pasek składa się z 10 zakrytych folią studzienek. Naklejka zawiera kod paskowy, określający typ, numer serii i datę ważności testu. Dla ułatwienia wprowadzenia próby do pierwszej studzienki, folia zakrywająca tą studzienkę jest perforowana. Ostatnia studzienka każdego paska testowego jest kuweta, w której prowadzony jest odczyt fluorymetryczny. Studzienki w centralnej części paska zawierają odczynniki wymagane do badania.

Opis paska testowego SPT

Studzienki	Odczynniki
1	Studzienka z próbą: wprowadzić 0.5 ml bulionu wzbogacającego, standardu lub kontroli.
2	Roztwór wstępnego płukania (400 µl): bufor pH 7.8 + konserwant.
3 - 4 - 5 - 7 - 8 - 9	Wash solution (600 µl): TRIS – NaCl (150 mmol/l) – Tween pH 7.6 + konserwant.
6	Koniugat (400 µl): proteiny specyficzne dla antygenów <i>Salmonella</i> znakowane fosfatazą alkaliczną + konserwant.
10	Kuweta odczytu z substratem (300 µl): fosforan 4-metylo-umbelliferylu (0.6 mmol/l) + dietanolamina * (DEA) (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + konserwant.

*** Odczynnik DRAŻNIĄCY:**

- **R 36:** Drażni oczy.
- **S 26:** W przypadku kontaktu z oczami, przepłukać natychmiast dużą ilością wody i udzielić pomocy medycznej. W celu uzyskania dokładniejszych informacji, odnieść się do Materiałowej Karty Bezpieczeństwa dostępnej na życzenie.

WYPOSAŻENIE WYMAGANE LECZ NIE WCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

- Aparat rodziny VIDAS®.
- Pipety jednorazowe i/lub mikropipety do odmierzenia odpowiednich objętości
- VIDAS® Heat and Go (bioMérieux ref. 93554 lub 93555 lub 93556: skontaktować się z lokalnym przedstawicielem bioMérieux) lub łaźnia wodna (95-100°C) lub system równoważny
- Mikser typu stomacher
- Torebka typu stomacher z filtrem
- *Salmonella* Supplement (*Salmonella* SUPP) (bioMérieux ref.42650)
- Bulion SX2 (bioMérieux ref. 42121, 20 probówek)
- chromID™ *Salmonella* Agar (SM2) (bioMérieux ref. 43621 lub 43629)

Zaleca się następujące odczynniki.

- Buforowana woda peptonowa
 - 3-litrowy worek (bioMérieux ref. 42629)
 - 225 ml butelka (bioMérieux ref. 42043)
 - 225 ml worek mini-bag (bioMérieux ref. 42729)
 - 90 ml butelka (bioMérieux ref. 42042)
 - 9 ml probówka (bioMérieux ref. 42111).
- Agar selektywny:
 - Przykłady:
 - Hektoen Agar (bioMérieux ref. 43111)
 - XLD Agar (bioMérieux ref. 43563)
 - XLT4 Agar (bioMérieux ref. 43701)
- Pasek
 - API® 20E (bioMérieux ref. 20 100)
 - lub ID 32 E (bioMérieux ref. 32400)
 - lub rapid ID 32 E (bioMérieux ref. 32700)

W celu uzyskania informacji o innych specyficznych materiałach i materiałach zużywalnych, odnieść się do Podręcznika Użytkownika Aparatu.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Wyłącznie do specjalistycznego zastosowania.**
- **Umieścić system VIDAS® w pomieszczeniu przeznaczonym do analiz mikrobiologicznych.**
- Postępować zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (np., standard ISO 7218) (3)
- Zestaw ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Wiedza o pochodzeniu i/lub stanie sanitarnym zwierząt całkowicie nie gwarantują braku czynników zakaźnych. Zaleca się traktowanie produktów jako potencjalnie zakaźnych i przestrzeganie zasad bezpieczeństwa (nie spożywać i nie wdychać).
- Nie używać pipetek SPR®, jeśli torebka jest przedziurawiona.
- Nie używać wizualnie uszkodzonych pasków testowych (zniszczona folia lub plastik).
- Nie używać przeterminowanych odczynników.
- Nie mieszać odczynników (lub materiałów zużywalnych) z różnych serii.
- Zestaw odczynników zawiera azydek sodu, który może reagować z ołowiem lub miedzią w kanalizacji, tworząc wybuchowe azydki metali. Jeżeli jakiś roztwór zawierający azydek sodu jest usuwany do kanalizacji, odpływy powinny być opłukiwane wodą dla uniknięcia niekorzystnego wpływu na armaturę.
- Substrat (studzienka 10) zawiera szkodliwy środek (6.6% dietanolamina). Patrz powyżej na temat ryzyka "R" i środków ostrożności "S".
- W przypadku rozlania, plamy powinny być starannie wytarte po uprzednim naniesieniu detergentu i wybielaczy zawierających przynajmniej 0.5% podchlorynu sodu. Patrz Podręcznik Użytkownika dla czyszczenia plam na i w aparacie. Nie autoklawować roztworów zawierających wybielacze.
- Aparat powinien być regularnie czyszczony i poddawany dekontaminacji (patrz Podręcznik Użytkownika).

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

- Zestaw VIDAS® SPT przechowywać w 2-8°C.
- **Nie zamrażać odczynników.**
- **Nieużyte odczynniki przechowywać w 2-8°C.**
- Po otwarciu zestawu należy sprawdzić czy torebka SPR® jest zapieczętowana i nieuszkodzona. Jeżeli jest uszkodzona nie należy stosować takiego SPR®-u.
- **Torebkę dokładnie zamknąć, pamiętając aby w środku pozostał osuszacz w celu zachowania stabilności SPR®-ów i dalej przechowywać w 2-8°C.**
- Przy zachowaniu warunków przechowywania, zestaw jest ważny aż do osiągnięcia daty na etykiecie.

PRÓBY (PRZYGOTOWANIE)

Zalecane są następujące protokoły.

Przed użyciem doprowadzić buliony wzbogacające do temperatury pokojowej (18-25°C).

Standardowa procedura dla wszystkich produktów żywnościowych dla ludzi (wyłączając surowe sery mleczne) i zwierząt i próbek środowiska produkcji

- W torebce typu stomacher z filtrem, aseptycznie umieścić:
 - X g (X ml) próbki.
 - 9X ml buforowanej wody peptonowej.
 Dla niektórych matryc, zaleca się postępowanie zgodne ze specyficznymi technikami przygotowania opisanymi w standardach EN ISO 6887-1 do 6887-5 i EN ISO 6579 (4-9) i dodać Suplement *Salmonella* do wzbogacania.

Uwaga 1: dla kakao i produktów zawierających kakao, nie dodawać zieleni brylantowej.

Uwaga 2: dla produktów kwaśnych, nie zaleca się dodawania wskaźnika barwy.

Uwaga 3: dla próbek środowiskowych, narzędzia do poboru powinny być zanurzone w sterylnym rozcieńczalniku (np., buforowanej wodzie peptonowej) zawierającej odpowiedni czynnik neutralizujący (np., mieszanina lecytyna-polisorbat-L.histydyny-tiosiarczan sodu). Po pobraniu, umieścić narzędzie w odpowiedniej objętości buforowanej wody peptonowej (np., wymazówkę w 10 ml, tampon w 90 ml).

Uwaga 4: Próbkę powyżej 25 g nie były testowane.
- Wymieszać z użyciem miksera typu stomacher.
- Dodać Y ml Suplementu *Salmonella* (Ref. 42650) zgodnie z:

$$Y = \frac{\text{objętość buforowanej wody peptonowej (ml)}}{225 \text{ ml}}$$

Przykłady:

- 1 ml dla 225 ml buforowanej wody peptonowej
- 400 µl dla 90 ml buforowanej wody peptonowej.

Uwaga 1: przed każdym użyciem, homogenizować suplement z użyciem mieszadła typu vortex.

Uwaga 2: jeśli do liczenia organizmów stanowiących wskaźniki jakości stosowane jest również rozcieńczenie 1/10 w buforowanej wodzie peptonowej, postępować zgodnie z zaleceniami standardu ISO 7218 (3). Wziąć pod uwagę tę porcję próbki przy początkowym ważeniu. Pobór próbki powinien być wykonany przed dodaniem suplementu *Salmonella*.

Uwaga 3: suplement może być dodany bezpośrednio do buforowanej wody peptonowej, jeśli liczenie organizmów stanowiących wskaźniki jakości nie będzie prowadzone z użyciem tej samej próbki testowej.

- Manualnie homogenizować zawartość torebki.

- Inkubować przez 18-24 godziny w 41.5 ± 1°C.
- Po inkubacji, homogenizować zawartość torebki. Jeśli stosowany jest VIDAS® Heat and Go, przenieść 0.5 ml bulionu wzbogacającego do studzienki paska testowego. Ogrzewać przez 5 ± 1 minut (patrz Podręcznik Użytkownika VIDAS® Heat and Go). Usunąć pasek i pozostawić do ochłodzenia przez 10 minut.

Uwaga: Nie używać VIDAS® Heat and Go do próbek jaj i drobiu.

 Jeśli stosowana jest łaźnia wodna, przenieść 2-3 ml bulionu wzbogacającego do probówki. Zamknąć probówkę. Ogrzewać przez 5 ± 1 minut w 95-100°C. Ochłodzić probówkę. Wymieszać ogrzewany bulion i przenieść 0.5 ml do studzienki paska VIDAS®.
- Przeprowadzić oznaczenie VIDAS®.
- Potwierdzić wyniki dodatnie.

Procedura dla produktów mlecznych (włączając surowe sery mleczne)

- W torebce typu stomacher z filtrem, aseptycznie umieścić:
 - X g (X ml) próbki.
 - 9X ml buforowanej wody peptonowej (bulion wzbogacający).
 Dla niektórych matryc, zaleca się postępowanie zgodne ze specyficznymi technikami przygotowania opisanymi w standardach EN ISO 6887-5 (8) i dodać Suplement *Salmonella* do wzbogacania.

Uwaga 1: dla produktów kwaśnych, nie zaleca się dodawania wskaźnika barwy.

Uwaga 2: Próbkę powyżej 25 g nie były testowane.
- Wymieszać z użyciem miksera typu stomacher.
- Dodać Y ml Suplementu *Salmonella* (Ref. 42650) wg:

$$Y = \frac{\text{objętość buforowanej wody peptonowej (ml)}}{225 \text{ ml}}$$

Przykład: 1 ml do 225 ml buforowanej wody peptonowej.

Uwaga 1: przed każdym użyciem, homogenizować suplement z użyciem mieszadła typu vortex.

Uwaga 2: jeśli do liczenia organizmów stanowiących wskaźniki jakości stosowane jest również rozcieńczenie 1/10 w buforowanej wodzie peptonowej, postępować zgodnie z zaleceniami standardu ISO 7218 (3). Wziąć pod uwagę tę porcję próbki przy początkowym ważeniu. Pobór próbki powinien być wykonany przed dodaniem suplementu *Salmonella*.

Uwaga 3: suplement może być dodany bezpośrednio do buforowanej wody peptonowej, jeśli liczenie organizmów stanowiących wskaźniki jakości nie będzie prowadzone z użyciem tej samej próbki testowej.

- Manualnie homogenizować zawartość torebki.
- Inkubować przez 18-24 godziny w 41.5 ± 1°C.
- Po inkubacji, wymieszać i przenieść 1 ml zawiesiny do 10 ml bulionu SX2 **uprzednio ogrzanego w 41.5 ± 1°C** (bulion wzbogacający).
- Inkubować przez 6-8 godzin w 41.5 ± 1°C.
- Po inkubacji, homogenizować bulion wzbogacający. Jeśli stosowany jest VIDAS® Heat and Go, przenieść 0.5 ml bulionu wzbogacającego do studzienki paska testowego. Ogrzewać przez 5 ± 1 minut (patrz Podręcznik Użytkownika VIDAS® Heat and Go). Usunąć pasek i pozostawić do ochłodzenia przez 10 minut. Jeśli stosowana jest łaźnia wodna, przenieść 2-3 ml bulionu wzbogacającego do probówki. Zamknąć probówkę. Ogrzewać przez 5 ± 1 minut w 95-100°C. Ochłodzić probówkę. Wymieszać ogrzewany bulion i przenieść 0.5 ml do studzienki paska VIDAS®.
- Przeprowadzić oznaczenie VIDAS®.
- Potwierdzić wyniki dodatnie.

Potwierdzenie uzyskanych wyników dodatnich

Wszystkie wyniki dodatnie uzyskane z VIDAS® SPT muszą być potwierdzone.

Potwierdzenie powinno być prowadzone z **nie-ogrzewanym** bulionem wzbogacającym.

- Izolować na agar selektywny.
- Inkubować agar zgodnie z instrukcjami w ulotce technicznej.
- Identyfikować pomiędzy 1 i 5 typowych kolonii z użyciem testów konwencjonalnych opisanych w metodach standaryzowanych przez CEN lub ISO (włączając etap oczyszczania) (4).

W przypadku wyników rozbieżnych (dodatnich metodą alternatywną, niepotwierdzonych testami opisanymi powyżej), laboratorium musi podjąć stosowne kroki w celu zapewnienia walidacji uzyskanych wyników.

Zaleca się, na przykład, następujący dodatkowy protokół:

- Przenieść 0.1 ml bulionu wzbogacającego do 10 ml bulionu SX2.
- Po inkubacji przez 16-24 godzin w $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$, izolować na agar selektywny.
- Identyfikować pomiędzy 1 i 5 typowych kolonii z użyciem testów konwencjonalnych opisanych w metodach standaryzowanych przez CEN lub ISO (4).

INSTRUKCJA UŻYTKOWANIA

Pełne instrukcje w Podręczniku Użytkownika.

Protokół wprowadzania danych VIDAS® PTC

Przy przeprowadzaniu oznaczenia po raz pierwszy, i **przed odczytaniem karty MLE**, skanować kod(y) (na końcu ulotki technicznej) używając czytnika kodów paskowych. Ten odczyt umożliwi wprowadzenie danych protokołu VIDAS® PTC do oprogramowania aparatu w celu aktualizacji. Dane te powinny być odczytane jedynie przy prowadzeniu oznaczenia po raz pierwszy.

Krzywa kalibracyjna

Uwaga: Przy przeprowadzaniu oznaczenia po raz pierwszy, konieczne jest wprowadzenie danych protokołu VIDAS® PTC (kody paskowe na końcu ulotki technicznej) przed odczytem karty MLE. Jeśli karta MLE zostanie odczytana przed danymi protokołu VIDAS® PTC, ponownie odczytać kartę MLE.

Przed każdym użyciem odczynników nowej serii, specyfikacje (lub dane fabrycznej krzywej kalibracyjnej) muszą być wprowadzone do aparatu (VIDAS® lub mini VIDAS®) używając karty MLE (ulotka specyfikacyjna) dołączona do każdego zestawu. Jeśli ta operacja nie zostanie przeprowadzona **przed rozpoczęciem testów**, aparat nie będzie drukował wyników.

Dane krzywej kalibracyjnej należy wprowadzić do pamięci aparatu raz dla danej serii odczynników. Dane z karty MLE można wprowadzać automatycznie lub ręcznie.

Kalibracja

Kalibracja, **przy użyciu** standardu dołączonego do zestawu, musi być przeprowadzona po otwarciu nowej serii odczynników, po wprowadzeniu danych krzywej kalibracyjnej. Kalibracja powinna być prowadzona co 28 dni. Dzięki tej operacji uzyskuje się krzywe kalibracyjne specyficzne dla danego urządzenia i kompensację możliwych niewielkich odchyżeń w sygnale w czasie przechowywania pasków do daty ważności.

Standard oznaczony jako S1 powinien być badany w **dwóch powtórzeniach** (patrz Podręcznik Użytkownika). Wartość standardu musi zawierać się w zakresie RFV ("Relative Fluorescence Value"). Jeżeli nie, należy wykonać rekalkibrację.

Procedura

1. **Z lodówki wyjąć tylko potrzebne odczynniki.**
2. Użyć jeden pasek "SPT" i jedną pipetkę "SPT" SPR® dla każdej próbki, kontroli lub standardu. **Upewnić się, czy torebka z pipetkami SPR® została szczelnie zamknięta.**
3. Test jest identyfikowany przez kod "SPT" w aparacie. Standard musi być identyfikowany przez "S1", i testowany w **dwóch powtórzeniach**.
Jeżeli testowana jest kontrola dodatnia, powinna być oznaczona jako "C1".
Jeżeli powinna być testowana kontrola ujemna, powinna być oznaczona jako "C2".
4. Homogenizować bulion wzbogacający z użyciem mieszadła typu vortex.
Jeśli stosowany jest VIDAS® Heat and Go, przenieść 0.5 ml bulionu wzbogacającego do studzienki paska testowego. Ogrzewać przez 5 ± 1 minut (patrz Podręcznik Użytkownika VIDAS® Heat and Go). Usunąć pasek i pozostawić do ochłodzenia przez 10 minut.
Jeśli stosowana jest łaźnia wodna, ogrzewać bulion wzbogacający przez 5 ± 1 minut w $95-100^\circ\text{C}$. Ochłodzić próbkę. Wymieszać ogrzewany bulion i przenieść 0.5 ml do studzienki paska VIDAS®.
5. Jeśli konieczne, wymieszać standard i kontrole używając mieszadła typu vortex i odmierzyć **500 µl** do studzienki paska testowego.
Uwaga: Nie ogrzewać standardu i kontroli.
6. Umieścić paski testowe i pipetki SPR® w aparacie. Sprawdzić czy kolorowe nalepki z kodem testu na pipetkach SPR® zgadzają się z analogicznymi umieszczonymi na paskach testowych.
7. Rozpocząć badanie zgodnie z Podręcznikiem Użytkownika. Wszystkie etapy badania są następie automatycznie prowadzone przez aparat. Wyniki zostaną uzyskane po około 48 minutach.
8. Po ukończeniu badania wyjąć paski testowe i SPRy® z aparatu.
9. Zużyte pipetki SPR® i paski testowe usunąć do pojemników na odpadowy materiał biologiczny, zgodnie z obowiązującymi lokalnymi regulacjami.

WYNIKI I INTERPRETACJA

Po zakończeniu badania wyniki są automatycznie analizowane przez komputer.

Fluorescencja w kuwecie pomiarowej każdego paska testowego mierzona jest dwukrotnie.

Pierwszy odczyt dotyczy tła kuwety z substratem, zanim SPR® zostanie wprowadzony do substratu.

Drugi odczyt fluorescencji następuje po inkubacji substratu z enzymem pozostającym wewnątrz pipetki SPR®.

RFV (Relative Fluorescence Value) obliczane jest jako różnica wartości końcowej i tła. Obliczenie to pojawia się na końcowym wydruku.

RFV otrzymane dla każdej próby podlega następującej interpretacji przez system VIDAS®:

$$\text{Wynik testu} = \frac{\text{RFV próby}}{\text{RFV standardu}}$$

Wartości progowe i interpretacja

Wartość testu	Interpretacja
< 0.25	Ujemny
≥ 0.25	Dodatni

Drukowany raport zawiera:

- typ prowadzonego testu,
- identyfikację próbek,
- datę i godzinę,
- numer serii i datę ważności używanego zestawu odczynnikowego,
- RFV, wartość testu i interpretację wyniku dla każdej próbki.

Rezultaty wartości testu poniżej poziomu progu wskazują, że próbka nie zawiera *Salmonella* lub zawiera *Salmonella* w stężeniu niższym od progu wykrywalności.

Próbki o wartości testu większej lub równej poziomowi progu wskazują, że próba jest zanieczyszczona *Salmonella*. W tym przypadku, odwołać się do odpowiedniej sekcji "Potwierdzenie wyników dodatnich".

Wyniki są interpretowane jako błędne:

- gdy odczyt tła jest wyższy niż odczyt wcześniej określonego jego poziomu (wskazując niski poziom zanieczyszczenia substratem).

W tym przypadku, powtórzyć oznaczenie używając zagotowanego bulionu lub reagenta, którego dotyczy błąd (S1, C1 lub C2).

- jeśli standard nie jest dostępny dla danej partii pasków testowych.

W tym przypadku, należy wprowadzić standard w dwóch powtórzeniach do pasków z takim samym numerem serii jak nieważny test próby. Wynik próby może być następnie przeliczony przy użyciu nowych wartości standardu. W celu uzyskania pełnych informacji patrz Podręcznik Użytkownika.

KONTROLA JAKOŚCI

Jedna kontrola dodatnia i jedna ujemna są zawarte w każdym zestawie VIDAS® SPT.

W celu weryfikacji kalibracji, kontrole muszą być wykonane każdorazowo po otrzymaniu nowego zestawu (patrz sekcja "Kalibracja").

Zaleca się przeprowadzenie tych kontroli każdorazowo po otrzymaniu nowego zestawu w celu upewnienia się, że wiarygodność odczynników nie została zmieniona.

Aparat będzie jedynie sprawdzał wartości kontroli, jeśli zostaną one zidentyfikowane jako C1 i C2.

Wyniki nie mogą być walidowane, jeśli wartości kontroli odbiegają od wartości spodziewanych.

Uwaga

Obowiązkiem użytkownika jest przeprowadzenie kontroli jakości zgodnie z lokalnymi uregulowaniami.

OGRANICZENIA METODY

Charakterystyka wiarygodności systemu dla każdego użycia poza oznakowaniem, ulotką techniczną lub Podręcznikiem Użytkownika nie zostały ustalone.

Każda zmiana lub modyfikacja procedury może wpływać na wyniki.

Ostrzeżenie

Oznaczenie VIDAS® SPT było sprawdzane na dużej liczbie matryc żywności. Uwzględniając jednak szeroką różnorodność produktów oraz procedur produkcji, zaleca się sprawdzenie czy skład testowanych matryc nie wpływa na wiarygodność wyników testu VIDAS® SPT.

System VIDAS® Heat and Go był sprawdzany na dużej liczbie matryc żywności. Uwzględniając dużą różnorodność matryc żywności, procedur produkcji, przy wprowadzaniu systemu zaleca się sprawdzenie, czy etap ogrzewania nie powoduje koagulacji lub precypitacji próby w studziencie paska testowego VIDAS®, co mogłoby prowadzić do zmiany objętości próby wprowadzanej do pipetki SPR®.

WIARYGODNOŚĆ

Podczas badań zewnętrznych uzyskano następujące wyniki wiarygodności:

443 próbek (233 ujemne, 210 dodatnie włączając 98 naturalnie zanieczyszczonych) było testowanych równocześnie z użyciem VIDAS® SPT i metodą EN ISO 6579 (9).

- Dodatkowe wyniki dodatnie z VIDAS® SPT: 1
- Wyniki fałszywie ujemne VIDAS® SPT: 1
- Wyniki zbieżne: 441

Dane badań wiarygodności uzyskano z użyciem podłoży hodowlanych bioMérieux.

SKŁADOWANIE ODPADÓW








Usuwanie zużytych i nie zużytych reagentów oraz jakichkolwiek innych zużywalnych materiałów podlega odpowiednim procedurom stosowanym dla produktów zakaźnych i potencjalnie zakaźnych.

Za obchodzenie się i składowanie wytworzonych odpadów oraz ścieków odpowiedzialne jest laboratorium, które musi traktować je i składować (lub powierzyć do składowania) stosownie do stopnia ich niebezpieczeństwa oraz zgodnie z odpowiednimi regulacjami prawnymi.

LITERATURA

1. KERR S., BALL H. J., MACKIE D.P., et al. - Diagnostic application of monoclonal antibodies to outer membrane protein for rapid detection of *Salmonella* - *Journal of Applied Bacteriology* - 1992, vol. 72, p. 302-308.
2. LE MINOR, L. - *Salmonella* lignieres - In KRIEG N.R. and HOLT J.G. - *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* - Ed. Williams and Wilkins - Baltimore, MD., 1984 - vol. 1, p. 427-458
3. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations* - ISO 7218 - 2007
4. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.* - EN ISO 6887-1 - 1999.
5. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products.* - EN ISO 6887-2 – 2004
6. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products.* - EN ISO 6887-3 – 2004
7. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products* - EN ISO 6887-4 - 2004
8. *Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products* - EN ISO 6887-5 - 2010.
9. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.* - EN ISO 6579 - 2002.


TABELA SYMBOLI

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Producent
	Przechowywać w temperaturze
	Zużyć do
	Numer serii
	Odnieś się do instrukcji użycia
	Zawartość wystarczy do wykonania <n> oznaczeń

Niebieski znak BIOMERIEUX, VIDAS, SPR, chromID i API są używanymi, i/lub podczas rejestracji, znakami towarowymi należącymi do bioMérieux SA lub jednego z jego przedstawicieli.

Stomacher jest używanym, i/lub podczas rejestracji, znakiem towarowym należącym do Seward Ltd. Jakkolwiek inne nazwy i znaki towarowe należą do odpowiednich właścicieli.



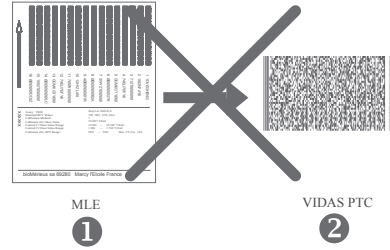
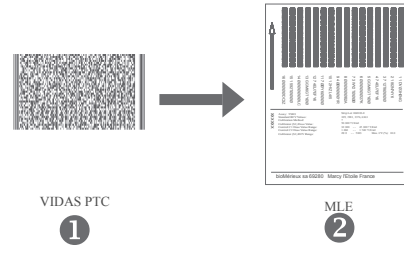
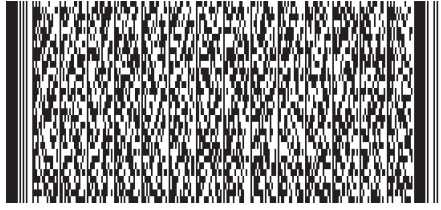
 **bioMérieux SA**
 RCS LYON 673 620 399
 69280 Marcy-l'Etoile / France
 Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90
 www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
 Box 15969,
 Durham, NC 27704-0969 / USA
 Tel. (1) 919 620 20 00
 Fax (1) 919 620 22 11

- FR** **Attention** : Lors de l'installation du protocole, saisir **impérativement** les données du **protocole VIDAS[®] PTC** avant de lire la carte **MLE**. (voir paragraphe "Mode opératoire").
- EN** **Caution** : When installing the protocol, it is **imperative** to enter the **VIDAS[®] PTC protocol data** before reading the **MLE** card. (see section "Instructions for use").
- DE** **Achtung**: Bei der Installation des Protokolls müssen die **VIDAS[®] PTC Protokoll-Daten unbedingt vor** dem Einlesen der **MLE-Karte** eingegeben werden (siehe Abschnitt „Testdurchführung“).
- ES** **Precaución** : Cuando instale el protocolo, es **imprescindible** introducir los **datos del protocolo VIDAS[®] PTC** antes de leer la tarjeta **MLE**. (ver la sección "Instrucciones de uso").
- IT** **Attenzione** : Quando si installa il protocollo, è **imperativo** introdurre i dati del **protocollo VIDAS[®] PTC** prima di leggere la scheda **MLE** (vedere il paragrafo "Procedimento").
- PT** **Atenção**: Ao instalar o protocolo, introduzir **imperativamente** os dados do **protocolo VIDAS[®] PTC** antes de ler o cartão **MLE**. (consultar o parágrafo "Procedimento").
- EL** **Προσοχή** : Κατά την εγκατάσταση του πρωτοκόλλου, είναι **υποχρεωτικό** να εισάγετε τα **δεδομένα του πρωτοκόλλου VIDAS[®]** πριν την ανάγνωση της **κάρτας MLE** (αναφερθείτε στην παράγραφο "Οδηγίες χρήσης").
- SV** **Varning** : Vid installation av protokollet är det **absolut nödvändigt** att skriva in **VIDAS[®] PTC protokolldata** innan **MLE** kortet avläses. (se avsnittet "Bruksanvisning").
- DA** **Forsigtig**: Ved installation af protokollen er det absolut nødvendigt at indtaste **VIDAS[®] protokoldata** inden indlæsning af **MLE** kortet (se afsnittet „Brugervejledning“).
- PL** **Uwaga** : Przy instalowaniu protokołu, **konieczne** jest wprowadzenie **danych protokołu VIDAS[®] PTC** przed odczytem karty **MLE**. (patrz sekcja "Instrukcja użytkownika").
- HU** **Vigyázat** : Amikor a protokollt telepíti, **kötelező** a **VIDAS[®] PTC protokoll-adatokat** az **MLE** kártya leolvasása előtt bevinni. (lásd a "Használati utasítás" szakaszt).
- SK** **Upozornenie** : Pri inštalácii protokolu je **nutné** vložiť dáta protokolu **VIDAS[®] PTC** (čiarové kódy na konci príbalového letáku) ešte **pred snímaním karty MLE**. (viď odsek „Návod na použitie“).
- CS** **Upozornění** : Při instalaci protokolu je **nezbytně nutné** vložit data protokolu **VIDAS[®] PTC** (čárové kódy na konci příbalového letáku) ještě **před snímáním karty MLE**. (viz sekce „Návod k použití.“).
- LT** **Ispėjimas** : Įdiegiant protokolą yra **būtina** įvesti **VIDAS[®] PTC** **protokolo duomenis prieš MLE** kortelės nuskaitymą (žiūrėkite skyrių "Naudojimo instrukcija").
- LV** **Piesardzīgi** : Protokola instalācijas laikā ir **obligāti** jāievada **VIDAS[®] PTC** **protokola dati pirms MLE** kartes lasījuma. (skat. sekciju "Lietošanas instrukcijas").
- ET** **Tähelepanu** : Protokolli installeerimisel on **väga oluline**, et **VIDAS[®] PTC** **protokolli andmed** sisestatakse **enne MLE** kaardi lugemist. (vt. lõiku "Kasutusjuhised").
- RU** **Внимание**: Данные об анализе **VIDAS[®] PTC** (штрих-коды в конце инструкции) **следует** вводить **перед тем**, как считывать **карту MLE** (см. п. "Применение").

- TR** **Dikkat** : Protokolü yüklerken, **MLE** kartını okutmadan **önce mutlaka VIDAS® PTC protokol verilerini** girmek gereklidir ("Kullanım şekli" bölümüne bakınız).
- NO** **Advarsel**: Når protokollen skal installeres er det **påkrevd** å registrere **protokolldata** for **VIDAS® PTC**, **før** registrering av MLE-kortet.(Se avsnittet "Bruksanvisning").
- RO** **Atentie** : La instalarea protocolului, este obligatorie introducerea **datelor din protocolul VIDAS® PTC** înainte de citirea cardului MLE (a se vedea secțiunea « Instrucțiuni de folosire »).
- SR** **Upozorenje**: Pri instalaciji protokola, neophodno je uneti **VIDAS® PTC podatke protokola pre** očitavanja **MLE** kartice (videti odeljak "Uputstva za upotrebu").

1



VIDAS PTC : UP Salmonella

SPT

9300912

B

UAC : N8

VP : 8

VS : 0

002