

PROTOCOLO SISTEMA DE DETECCIÓN MOLECULAR 3M SALMONELLA 2

Enriquecimiento de la muestra:

Las muestras deben ser incubadas en Agua Peptonada Tamponada ISO a 37°C o 41,5 °C según sea el caso del tipo de matriz por un periodo desde por 18 - 30 horas.

- 25 g en 225 ml para muestras de alimentos
- 10 ml para muestras ambientales swabs
- 100 o 225 ml para ambientales de esponja

Muestras de producto:

Matriz/ Protocolo	Muestra (g)	Volumen Enriquec. (ml)	T° Enriq. (±1°C)/ Tiempo (h)
1	25	225 BPW ISO	37°C / 18-26 h
2	25	225 BPW ISO (Pre-calentado)	41,5°C / 18-26 h
3	25	225 BPW ISO	37°C / 20-26 h
4	25	225 100g/L leche en polvo descremada con tintura verde brillante 0,002%	37°C / 24-30 h
5	25	235 ml 2X BPW ISO con K ₂ SO ₃ al 0,5% + 100g/L de leche en polvo descremada.	37°C / 24-30 h

Matrices:

- 1: Alimentos procesados (excluye huevo deshidratado).
- 2: Alimentos crudos, congelados, huevo en polvo, alimento animal, muestras ambientales.
- 3: Productos lácteos en polvo.
- 4: Productos en base a cacao.
- 5: Especias, hierbas aromáticas, concentrados, café y té instantáneos.

Muestras ambientales:

Matriz/ Protocolo	Muestra (g)	Volumen Enriquec. (ml)	T° Enriq. (±1°C)/ Tiempo (h)
1	1 esponja	225 BPW ISO (Pre-calentado)	41,5°C / 18-24 h
2	1 tórula	10 BPW ISO (Pre-calentado)	41,5°C / 18-24 h
3	1 esponja	50 BPW ISO (Pre-calentado)	41,5°C / 18-24 h

- 1: Concreto sellado.
- 2: Acero inoxidable.
- 3: Baldosas de cerámica selladas

1. LISIS

- Antes de abrir los tubos, inviértalos un par de veces para mezclar la solución de lisis.
- Utilice la herramienta para abrir una tira de tubo de LS.
- Deseche las tapas. Abra una tira a la vez.



- Transfiera 20 ul de **cada muestra** enriquecida a un tubo de lisis



- Transfiera 20 ul de **medio estéril (Agua Peptonada Tamponada ISO)** a un tubo de lisis a modo de control negativo
- **Tratamiento térmico:** Asegurar que la unidad de calentamiento se encuentre a 100°C y calentar la gradilla de tubos de lisis a 100°C durante 15 min con los tubos abiertos. Los tubos virarán de color rosado a amarillo



- **Enfriamiento:** coloque los tubos de lisis en el bloque de frío por 5 minutos a temperatura ambiente. Los tubos volverán a color rosado.



2. AMPLIFICACIÓN.

- Coloque los Tubos de Reacción codificados por color (1 por muestra) y 1 tubo de Control de Reactivo (RC) en la gradilla
- Utilice la herramienta (cap/decap) para destapar los tubos y **deseche** las tapas.



- Transferir 20 ul de la muestra lisada al tubo de reacción.

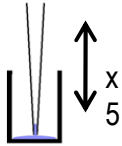
Viértalo en ángulo para evitar que se mueva la pastilla



- Transferir 20 ul de Control Negativo lisado a un tubo de reactivo.
- Transferir 20 ul de Control Negativo lisado a un tubo de Control de Reactivo (CR)



- Mezcle y elimine las burbujas de aire pipeteando hacia arriba y hacia abajo 5 veces.



- Tape los tubos de reactivos con la tapa adicional provista
- Transfiera los tubos de la gradilla a la bandeja de carga y colóquela en el equipo de Sistema de Detección Molecular, asegurándose que el equipo se encuentre a la temperatura correspondiente (barra verde) y que el diseño de las muestras en el software coincida con lo que ha colocado en la bandeja de carga.

