

# SOLUS ONE SALMONELLA

Sistema de Testes Baseados em Imunoensaio para  
a Detecção de *Salmonella*  
em Amostras Ambientais e de Alimentos Seleccionados

**Número do folheto informativo:** 40  
**Número de emissão:** 1.0  
**Data de emissão:** Janeiro de 2020  
**Código(s) do produto:** SAL1-0096; SAL1-0480  
**Organismo de certificação:** AOAC



Esta página foi deixada em branco intencionalmente



A execução deste método foi analisada pelo AOAC Research Institute e foi considerado que se encontra em conformidade com as especificações do fabricante.

Este método foi avaliado no Programa AOAC® *Performance Tested Methods*<sup>SM</sup> quanto à detecção de *Salmonella* spp. em filete de salmão cru, alface romana em saco, queijo cheddar ralado, leite em pó instantâneo desnatado, ovos líquidos pasteurizados (100 g), aparas de carne bovina crua (375 g), molho de mostarda e mel, molho rancheiro temperado, canela em pó, pimentão doce em pó, pimenta preta em grão, cacau em pó, massa de cacau, tablete de chocolate de leite, superfícies ambientais de poliestireno e aço inoxidável. O método Solus One *Salmonella* foi comparado com os métodos de referência 4.09 do MLG do USDA-FSIS e Capítulo 5 do BAM da FDA, conforme aplicável às matrizes. (Licença de AOAC® *Performance Tested*<sup>SM</sup> n.º **101801**).

## 1. INTRODUÇÃO

O Solus One *Salmonella* proporciona um resultado negativo ou presumivelmente positivo de uma única etapa de enriquecimento no período de 24 horas, incluindo a duração do ensaio.

## 2. FINALIDADE

O Solus One *Salmonella* é utilizado para a deteção no dia seguinte de *Salmonella* spp. em amostras ambientais da produção e de alimentos selecionados. O método de ensaio é fácil de realizar, mas requer instalações laboratoriais e pessoal com qualificação e formação adequada. Para aqueles que o utilizem pela primeira vez, recomenda-se que obtenham uma formação básica fornecida pela Solus Scientific Solutions Ltd.

A utilização do método inclui o cumprimento das boas práticas de laboratório (consulte a EN ISO 7218).

## 3. REAGENTES FORNECIDOS

A maioria dos componentes do kit são fornecidos estabilizados e prontos para utilizar na concentração de atuação, com o ativador de tampão de lavagem e concentrado de tampão de lavagem a serem os únicos que requerem diluição. Cada kit possui material suficiente para 1 (SAL1-0096) ou 5 (SAL1-0480) x 93 determinações, além dos controlos. A data de validade do kit encontra-se no rótulo de cada produto.

Componente	Aspetto	Volume		Comentários
		SAL1-0096	SAL1-0480	
Placa de ensaio	Microplaca de 96 poços com formato de tira amovível	1	5	Poços revestidos com anticorpos contra <i>Salmonella</i> spp.
Controlo negativo	Líquido laranja pálido. Rótulo verde.	3 ml	10 ml	Concentração de atuação. Contém diluente com conservante.
Controlo positivo	Líquido preto. Rótulo vermelho.	3 ml	10 ml	Concentração de atuação. Contém <i>Salmonella</i> inativada pelo calor em diluente com conservante.
Conjugado	Líquido incolor/de cor palha muito pálida. Rótulo laranja.	11 ml	60 ml	Concentração de atuação. Contém conjugado de anticorpo de peroxidase de rábano em diluente com conservante.
Substrato	Líquido incolor/azul muito pálido. Rótulo azul.	11 ml	60 ml	Concentração de atuação. Contém 3, 3', 5, 5'-Tetrametilbenzidina (TMB), peróxido de hidrogénio e estabilizadores.
Solução de paragem	Líquido incolor. Rótulo prateado.	11 ml	60 ml	Concentração de atuação. Contém 0,2 M de ácido sulfúrico.
Concentrado de tampão de lavagem	Líquido incolor/amarelo/laranja. Rótulo branco.	10 ml x 6	60 ml x 5	Concentrado. Diluir antes de utilizar.
Ativador de tampão de lavagem	Saqueta de alumínio de produto pulverulento granular.	6 (pequenas)	5 (grandes)	O ativador de tampão de lavagem tem de ser dissolvido no volume requerido de água desionizada (DI) antes da adição do concentrado de tampão de lavagem na solução. Consulte os pormenores na secção 5.
Filtros de vidro sinterizado	Discos de plástico brancos planos aprox. 12 mm de diâmetro	100	500	Os filtros de vidro sinterizado devem ser aplicados a cada tubo de amostra após o tratamento por calor, assim que a amostra voltar à temperatura ambiente (18- 25 °C). Consulte os pormenores na secção 7.

## 4. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS QUE NÃO SÃO FORNECIDOS

Frigorífico a 2-8 °C	Pipetas de transferência de 3 ml (esterilizadas)
Água desionizada ou destilada (DI)	Agitador vórtex
Água peptonada tamponada (APT)	Temporizador
Água peptonada tamponada modificada da Solus (Solus mBPW)	Incubadora a 37±1 °C
Complemento Solus One	Incubadora a 41,5±1 °C
70% v:v de etanol	Tubos para ebulição de amostras (p. ex., tubos sem aro de 5 ml de polipropileno, 12x75 mm)
Bolsas de filtro	
Amostras de esponja e zaragoas impregnadas em tampão de neutralização adequado (p. ex., caldo Lethen ou tampão de alta capacidade)	Aparelho para aquecimento (p. ex., incubadora de calor) com capacidade para aquecer a 85-100 °C
Homogeneizador (ou aparelho similar)	Dynex DS2 ou lavadora de microplacas e leitor de microplacas com filtro de 450 nm
Pipetas e pontas (1 ml; 0,1 ml)	
Provetas graduadas para diversos volumes (p. ex., 250 ml, 1 L)	Autoclave para descontaminação de amostras

## 5. PREPARAÇÃO DE REAGENTES

### 5.1 Tampão de lavagem:

Prepare o seguinte num recipiente limpo.

SAL1-0096	SAL1-0480
Adicione os conteúdos de 1 x saqueta de ativador de tampão de lavagem a 240 ml de água desionizada (DI). Misture até o ativador estar totalmente dissolvido.	Adicione os conteúdos de 1 x saqueta de ativador de tampão de lavagem a 1440 ml de água desionizada (DI). Misture até o ativador estar totalmente dissolvido.
Adicione 10 ml (1 garrafa) do concentrado de tampão de lavagem no recipiente que contém a solução ativadora e agite para misturar.	Adicione 60 ml (1 garrafa) do concentrado de tampão de lavagem no recipiente que contém a solução ativadora e agite para misturar.

### 5.2 Caldo de cultura (meio de crescimento):

- Prepare a água peptonada tamponada (APT) e/ou água peptonada tamponada modificada da Solus (Solus mBPW) de acordo com as instruções do fabricante. Deixe arrefecer até à temperatura ambiente (p. ex., 18-25 °C) antes de utilizar.
- Reconstitua o complemento Solus One de acordo com as instruções do fabricante. Prepare o caldo de cultura complementado (APT ou Solus mBPW) no nível adequado ao tamanho da embalagem do complemento utilizado e à força necessária para a matriz a testar. Consulte os pormenores na secção 6.

	SALSUPP22.5 ou SALSUPP112.5	SALSUPP200
"Força total"	Adicione 4,44 ml do complemento por 1 L de caldo de cultura	Adicione 2,5 ml do complemento por 1 L de caldo de cultura
"Força média"	Adicione 2,22 ml do complemento por 1 L de caldo de cultura	Adicione 1,25 ml do complemento por 1 L de caldo de cultura

NOTA: Certifique-se de que a APT/Solus mBPW é pré-aquecida antes de ser adicionado o complemento Solus One, se necessário, de acordo com a secção 6.

## 6. PREPARAÇÃO E ENRIQUECIMENTO DE AMOSTRAS

### 6.1 Amostras de alimentos

#### **Diluição 1 em 10 em APT complementada com força total:**

- Amostra de 25 g (salmão cru, queijo cheddar, alface romana) - Homogeneíze 25 g da amostra em 225 ml de APT complementada com força total e incube durante 20-22 horas a  $41,5\pm 1$  °C.
- Amostra de 100 g (ovo líquido pasteurizado) - Aqueça APT a  $37\pm 2$  °C antes de ser complementada com força total para utilizar. Homogeneíze 100 g da amostra em 900 ml de APT pré-aquecida e complementada e incube durante 20-22 horas a  $41,5\pm 1$  °C.

#### **Diluição 1 em 4 em APT complementada com força total:**

- Amostra de 375 g (aparas de carne bovina crua) - Aqueça APT a  $37\pm 2$  °C antes de ser complementada com força total para utilizar. Homogeneíze 375 g da amostra em 1125 ml de APT pré-aquecida e complementada e incube durante 20-22 horas a  $41,5\pm 1$  °C.
- Amostra de 375 g (leite em pó instantâneo desnatado) - Aqueça APT a  $37\pm 2$  °C antes de ser complementada com força total para utilizar. Homogeneíze 375 g da amostra em 1125 ml de APT pré-aquecida e complementada e incube durante 21-22 horas a  $41,5\pm 1$  °C.

### 6.2 Ervas aromáticas e especiarias

#### **Diluição 1 em 10 em Solus mBPW complementada com força média:**

- Amostra de 25 g (pimentão doce em pó, pimenta preta em grão). Homogeneíze 25 g da amostra em 225 ml de Solus mBPW complementada com força média e incube durante 20-24 horas a  $41,5\pm 1$  °C.
- Amostra de 375 g (molho de cebola com mostarda e mel, molho rancheiro temperado). Homogeneíze 375 g da amostra em 3375 ml de Solus mBPW complementada com força média e incube durante 20-24 horas a  $41,5\pm 1$  °C.

#### **Diluição 1 em 50 em Solus mBPW complementada com força média:**

- Amostra de 25 g (canela em pó) Homogeneíze 25 g da amostra em 1225 ml de Solus mBPW complementada com força média e incube durante 20-24 horas a  $41,5\pm 1$  °C.

### 6.3 Confeitaria

#### **Diluição 1 em 10 em Solus mBPW complementada com força média:**

- Amostra de 25 g. Homogeneíze 25 g da amostra em 225 ml de Solus mBPW complementada com força média e incube durante 20-24 horas a  $41,5\pm 1$  °C.
- Amostra de 375 g (cacau em pó, massa de cacau, tablete de chocolate de leite). Homogeneíze 375 g da amostra em 3375 ml de Solus mBPW complementada com força média e incube durante 20-24 horas a  $41,5\pm 1$  °C.

Alguns tipos de amostra enriquecida podem conter partículas que dificultam a pipetagem. A utilização de uma bolsa de filtro para enriquecimento pode conter estas partículas e minimizar os problemas de pipetagem.

### 6.4 Amostras ambientais

#### **APT complementada com força total:**

- Obtenha uma amostra da superfície ambiental da produção com um dispositivo de amostragem. Siga as instruções do fabricante do dispositivo de amostragem para uma utilização, armazenamento e transporte correto.

- Aqueça APT a  $37\pm 2$  °C antes de ser complementada com força total para utilizar. Adicione 100 ml de APT pré-aquecida e complementada à amostra de esponja numa bolsa de amostra adequada. Adicione 10 ml de APT pré-aquecida e complementada às zaragatoas. Massageie com as mãos durante 2 minutos (amostras de esponja) ou misture num agitador de vórtice durante 2 minutos (zaragatoas) e incube durante 16-20 horas a  $41,5\pm 1$  °C.

Certifique-se de que o tempo de processamento em bancada das amostras é reduzido ao mínimo e que a transferência para a incubadora de 41,5 °C é realizada assim que possível. Isto é importante para evitar o amplo crescimento de organismos concorrentes.

## 7. INATIVAÇÃO PELO CALOR APÓS ENRIQUECIMENTO

- 7.1. Quando o período de incubação da amostra estiver concluído, transfira 1-2 ml de alíquota (evitando as partículas) para um tubo para ebulição da amostra (p. ex., tubo de polipropileno de 5 ml).
- 7.2. Aqueça a alíquota a 85-100 °C durante 15-20 minutos no tubo. Após o aquecimento, deixe a amostra arrefecer até à temperatura ambiente (18-25 °C). Isto poderá ser acelerado ao colocar os tubos sob água fria da torneira durante aprox. 5 minutos.
- 7.3. Para evitar problemas de pipetagem, principalmente no instrumento Dynex DS2, adicione um filtro de vidro sinterizado diretamente em cada tubo de amostra e pressione ligeiramente para permitir a pipetagem de uma amostra relativamente clara acima do nível do vidro sinterizado.

NOTA - O vidro sinterizado apenas deve ser introduzido após a fase de aquecimento, e assim que o tubo voltar à temperatura ambiente (18-25 °C). Alguns tipos de amostra podem coagular durante a etapa de inativação pelo calor, o que pode provocar dificuldades na pipetagem da amostra. Exemplos destes tipos de amostra são os produtos feitos com ovos e os caseinatos. Estas amostras poderão requerer uma adição manual no imunoensaio.

As amostras não inativadas pelo calor devem ser preservadas para verificação até à obtenção dos resultados do imunoensaio. Estas amostras devem ser mantidas a  $41,5\pm 1$  °C se o teste for realizado no prazo de 2 horas. Se isto não for possível, mantenha os caldos durante um período de até 72 horas a 2-8 °C antes do teste.

## 8. PROCEDIMENTO DE IMUNOENSAIO

- 8.1. Retire o kit de teste do local de armazenamento, pelo menos, uma hora antes de o utilizar para permitir que os componentes atinjam a temperatura ambiente (18-25 °C). Determine o número de poços necessários para o teste. Retire a quantidade necessária de tiras da bolsa e coloque-as no suporte fornecido. As tiras não utilizadas devem ser colocadas novamente na bolsa e armazenadas a 2-8 °C.
- 8.2. Prepare tampão de lavagem conforme detalhado na secção 5.1 para o tamanho do kit utilizado.
- 8.3. Deixe o primeiro poço na tira vazio para ser utilizado como um "espaço vazio" para a medição da absorvância do substrato.
- 8.4. Pipete 0,1 ml de controlo negativo (rótulo verde) no segundo poço.
- 8.5. Pipete 0,1 ml de controlo positivo (rótulo vermelho) no terceiro poço.
- 8.6. Pipete 0,1 ml de cada amostra inativada pelo calor de forma separada em poços consecutivos na tira. Se sobrare poços no final de uma tira de teste, os controlos positivos ou negativos poderão ser repetidos. †
- 8.7. Incube a placa (que tenha as tiras) a  $37\pm 1$  °C durante 30-35 minutos.

- 8.8. Após a incubação, aspire os conteúdos dos poços, removendo a maior quantidade possível de líquido. Lave os poços 5 vezes com tampão de lavagem, garantindo o enchimento e esvaziamento completo dos poços em cada ciclo de lavagem. A técnica de lavagem é fundamental para a execução do ensaio e, por conseguinte, recomenda-se a utilização de um instrumento de lavagem de microplacas.
- 8.9. Pipete 0,1 ml de conjugado (rótulo laranja) em todos os poços, salvo no que é utilizado como "espaço vazio".
- 8.10. Incube a placa a  $37 \pm 1$  °C durante 30-35 minutos.
- 8.11. Repita os ciclos de lavagem conforme detalhado na secção 8.8
- 8.12. Pipete 0,1 ml de substrato (rótulo azul) em todos os poços, incluindo o poço que é utilizado como "espaço vazio".
- 8.13. Incube a placa à temperatura ambiente (18-25 °C) durante 30-35 minutos no escuro.
- 8.14. Após a incubação, pare a reação ao adicionar 0,1 ml de solução de paragem (rótulo dourado) em todos os poços, incluindo o poço que é utilizado como "espaço vazio". A solução de paragem fará com que qualquer cor azul nos poços mude para amarelo.
- 8.15. Leia as densidades óticas dos poços em 10 minutos num leitor de placas com um filtro de 450 nm. Antes da leitura, inspecione se existem bolhas de ar nos poços e, se houver, rebente-as com uma agulha. O leitor deve ser colocado a zeros através do poço utilizado como "espaço vazio" antes da leitura dos outros poços. Não utilize o filtro de referência. É preferível utilizar equipamento automático ELISA que deve ser configurado e validado de acordo com este protocolo.

† Se utilizar o instrumento Dynex, deve tomar cuidado para impedir o surgimento de bolhas na amostra e nos tubos de reagente, ou a formação de camadas ao longo do tubo acima do nível do líquido. Antes de avançar, é fundamental confirmar se o sistema pipetou com sucesso amostras para a placa de ensaio.

## 9. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados são apresentados como medições de densidade ótica ( $DO_{450}$ ) através de um leitor de microplacas.

Critérios de aceitação:

Controlo negativo $DO_{450}$	< 0,100
Controlo positivo $DO_{450}$	> 0,500

O valor do poço vazio (normalmente o A1 quando o processamento é realizado manualmente) deve ser sempre subtraído de todos os outros resultados. Se o valor dos controlos negativo ou positivo não cumprir estes critérios, o teste não será considerado válido e terá de ser realizado novamente.

As amostras com leituras de  $DO_{450} < 0,200$  são consideradas negativas, sendo que neste caso a análise está concluída, os resultados poderão ser comunicados e as respetivas amostras não inativadas pelo calor poderão ser eliminadas de acordo com os regulamentos/diretrizes locais.

As amostras com  $DO_{450} \geq 0,200$  são consideradas presumivelmente positivas quanto a *Salmonella*. Os resultados presumivelmente positivos têm de ser verificados através de um método de cultura reconhecido.



## 10. CONFIRMAÇÃO DOS RESULTADOS POSITIVOS DO IMUNOENSAIO ONE *SALMONELLA*

- As amostras positivas do ensaio poderão ser confirmadas através da metodologia cultural descrita nos métodos normalizados, tal como o Capítulo 5: *Salmonella* do Bacteriological Analytical Manual (BAM) da Food and Drug Administration dos EUA, o Microbiology Laboratory Manual (MLG) 4.09 do Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service dos EUA ou a 6578-1 da Organização Internacional de Normalização (ISO).
- Realize a subcultura da amostra não inativada pelo calor em dois ágaros seletivos e num caldo de enriquecimento seletivo. Incube conforme adequado. Após a incubação, examine as placas quanto à presença de colónias típicas. Se forem observadas colónias típicas, confirme através das técnicas adequadas.
- Se não forem observadas colónias típicas, realize a subcultura do enriquecimento seletivo em dois ágaros seletivos e incube conforme adequado. Após a incubação, examine as placas quanto à presença de colónias típicas. Se forem observadas colónias típicas, confirme através das técnicas adequadas. Se não forem observadas colónias típicas, a amostra é considerada negativa.
- A confirmação apenas deve ser tentada por microbiologistas qualificados.

## 11. ARMAZENAMENTO E VALIDADE DO KIT

O kit e quaisquer componentes não utilizados do kit devem ser armazenados a 2-8 °C. **NÃO CONGELAR.** A data de validade do kit está indicada na caixa do kit, assim como em todos os componentes do kit que se encontram no interior da caixa. Qualquer tampão de lavagem diluído não utilizado pode ser armazenado ao longo de até 10 dias se for mantido a 2-8 °C. Quaisquer tiras de microplacas não utilizadas devem ser colocadas novamente na bolsa de alumínio com a saqueta de dessecante e o fecho hermético completamente fechados e, depois, armazenadas a uma temperatura de 2-8 °C.

## 12. SEGURANÇA

Embora os procedimentos apresentados sejam simples e fáceis de realizar, requerem instalações laboratoriais com pessoal qualificado com formação para o manuseamento de organismos potencialmente patogénicos. Para aqueles que o utilizem pela primeira vez, recomenda-se que obtenham uma formação fornecida pela Solus Scientific Solutions Ltd.

- A solução de paragem contém ácido sulfúrico, o qual é corrosivo. Lave imediatamente com água em abundância se a solução entrar em contacto com a pele ou mucosas.

Como orientação, devem ser tomadas pelo menos as seguintes precauções:

- Deve ser usado vestuário de proteção, incluindo bata de laboratório, óculos de proteção, máscara e luvas, conforme adequado.
- Não pipetar com a boca.
- Evitar o contacto com a pele.
- Não comer, beber nem aplicar cosméticos no laboratório.
- Seguir todos os regulamentos locais, estatais/provinciais e/ou nacionais aplicáveis quanto à eliminação de resíduos biológicos.

### 13. PRECAUÇÕES PARA UM ÓTIMO DESEMPENHO

- Os reagentes são fornecidos com uma concentração de atuação fixa. Haverá uma redução da excelente sensibilidade e especificidade se os reagentes forem modificados ou não forem armazenados sob as condições recomendadas.
- Não misture diferentes lotes de reagentes.
- Evite a contaminação microbiana das garrafas de reagente abertas.
- Certifique-se de que não ocorre contaminação cruzada entre os poços.
- Para a realização correta do teste é fundamental não permitir que o anticorpo conjugado com enzima contamine outros reagentes e equipamento.
- Certifique-se de que os componentes do kit não são expostos a temperaturas superiores a 40 °C.
- Não devem ser utilizadas soluções que contenham azida de sódio para a limpeza do equipamento, principalmente dispositivos de lavagem (a enzima peroxidase utilizada no kit é inativada pela azida de sódio).
- Não utilize para fins de diagnóstico de amostras médicas.

### 14. INFORMAÇÃO DAS MSDS

Existem fichas de dados de segurança (MSDS) relativas a este teste disponíveis mediante pedido.

## 15. GARANTIA

A precisão dos resultados depende da utilização do kit de forma correta e com cuidado de acordo com as instruções de utilização. Se o desempenho do kit não estiver de acordo com as especificações, entre em contacto com:

### **Solus Scientific Solutions Ltd**

9 Mansfield Networkcentre,  
Millennium Business Park, Concorde Way,  
Mansfield, Nottinghamshire  
NG19 7JZ

Tel. - +44 (0)1623 429701

Fax - +44 (0)1623 620977

Email: [info@solusscientific.com](mailto:info@solusscientific.com)



Esta página foi deixada em branco intencionalmente

## Informação de direitos de autor

O presente documento, incluindo todas as fotografias e ilustrações, contém informações exclusivas que se encontram protegidas por direitos de autor. Nenhuma parte da presente publicação pode ser de alguma forma reproduzida ou traduzida para qualquer idioma sem a autorização prévia por escrito da PerkinElmer. ©2020 PerkinElmer, Inc. Todos os direitos reservados.

## Marcas comerciais

A PerkinElmer é uma marca comercial registada da PerkinElmer, Inc. Todas as outras marcas comerciais são da propriedade dos respetivos proprietários.

## Resumo de alterações

Data da alteração	Número de emissão	Resumo da alteração
Jan2020	1	Reformulação e combinação de Solus One Salmonella – AOAC – Folheto informativo 30 – Emissão 4 – 12/19 e Solus One Salmonella – AOAC – Folheto informativo 31 – Emissão 4 – 12/19

NOTA: As pequenas alterações (p. ex., formatação, gramática, correção de erros tipográficos) não estão incluídas no resumo de alterações.

Para obter mais informações, visite [www.solusscientific.com](http://www.solusscientific.com)

### Fabricado em:

#### **Solus Scientific Solutions Ltd.**

9 Mansfield Networkcentre,  
Millennium Business Park, Concorde Way,  
Mansfield, Nottinghamshire  
NG19 7JZ  
Reino Unido  
Tel. - +44 (0)1623 429701

#### **PerkinElmer, Inc**

940 Winter Street,  
Waltham, MA 02451 EUA  
T: (800) 762-4000 ou  
(+1) 203-925-4602  
[www.perkinelmer.com](http://www.perkinelmer.com)



---

Para obter uma lista completa dos nossos escritórios globais, visite [www.perkinelmer.com/ContactUs](http://www.perkinelmer.com/ContactUs)