

Instrucciones del Producto

Ensayo 2 Detección Molecular - *Cronobacter*

Descripción del producto y uso previsto

El Ensayo 2 Detección Molecular 3M™ - *Cronobacter* se utiliza con el Sistema de Detección Molecular 3M™ para la detección específica y rápida de *Cronobacter* en muestras enriquecidas de alimentos y muestras ambientales de donde se procesan alimentos.

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

El Ensayo 2 Detección Molecular - *Cronobacter* está previsto para su uso en laboratorios por profesionales capacitados en el empleo de técnicas de laboratorio. 3M no documentó el uso de este producto en otras industrias que no sean la alimentaria o la de bebidas. Por ejemplo, 3M no ha documentado este producto para la evaluación de muestras farmacéuticas, cosméticas, clínicas o veterinarias. Ensayo 2 Detección Molecular - *Cronobacter* no se evaluó con todos los productos alimenticios, los procesos de alimentos o protocolos de pruebas posibles ni con todas las cepas de bacterias posibles.

Como con todos los métodos de prueba, el origen, la formulación y la calidad del medio de enriquecimiento puede influir sobre los resultados. Los factores como los métodos de toma de muestras, los protocolos de prueba, la preparación de la muestra, incluso la homogenización y mezclado, manipulación y técnicas de laboratorio aplicados sobre las muestras también pueden influir sobre los resultados. 3M recomienda la evaluación del método lo que incluye el medio de enriquecimiento en el ambiente del usuario mediante un número suficiente de muestras con determinados alimentos o muestras ambientales y retos microbianos para garantizar que el método satisface los criterios del usuario.

3M ha evaluado el Ensayo 2 Detección Molecular - *Cronobacter* con Agua Peptonada Tamponada ISO.

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

3M Food Safety tiene certificación ISO (International Organization for Standardization) 9001 para diseño y fabricación.

El kit de prueba para el Ensayo 2 Detección Molecular - *Cronobacter* contiene 96 pruebas, que se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Componentes del Kit para el Ensayo de Detección Molecular

Artículo	Identificación	Cantidad	Contenido	Comentarios
Solución de Lisis (LS) 3M™	Solución rosada en tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µl de LS por tubo	En bastidor y lista para usar
Tubos de reactivos para el Ensayo 2 Detección Molecular 3M™ - <i>Cronobacter</i>	Tubos naranjas-rojos	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mezcla de detección y amplificación específica liofilizada	Listos para usar
Tapas adicionales	Tapas naranjas-rojas	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listos para usar
Control de Reactivos 3M™ (RC)	Tubos transparentes con tapa de bisagra	16 (2 bolsas de 8 tubos individuales)	Mezcla de detección y amplificación de control liofilizado de ADN	Listos para usar

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

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y proceder de acuerdo con toda la información sobre seguridad incluida en las instrucciones para el Sistema de Detección Molecular 3M y el Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter*. Guarde las instrucciones de seguridad como referencia en el futuro.

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

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

⚠️ ADVERTENCIA

No use el Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* para el diagnóstico de afecciones en seres humanos ni animales.

El usuario debe capacitar a su personal en las técnicas de evaluación adecuadas: por ejemplo, Buenas Prácticas de Laboratorio⁽³⁾, la norma ISO 17025⁽⁴⁾ o la norma ISO 7218⁽⁵⁾.

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

- Siga el protocolo y realice las pruebas exactamente como se indica en las instrucciones del producto.
- Almacene el Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* como se indica en el embalaje y en las Instrucciones del producto.
- Siempre use el Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* antes de su fecha de vencimiento.
- Use el Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* con muestras de alimentos y muestras ambientales de donde se procesan alimentos validadas internamente o por un tercero.
- Use el Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* solo con superficies, desinfectantes, protocolos y cepas bacterianas que hayan sido validados internamente o por un tercero.
- En el caso de muestras ambientales que contengan una solución amortiguadora neutralizante (NB) con un complejo de aril sulfonato, prepare una dilución en una proporción de 1:2 (1 parte de muestra en 1 parte de caldo de enriquecimiento estéril) antes de realizar la prueba. Otra opción es transferir 10 µL de la solución amortiguadora neutralizante a los tubos de Solución de Lisis 3M. Productos de manipulación de la muestra 3M™ que incluyen la solución amortiguadora Neutralizante con el complejo de aril sulfonato: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G y HS2410NB2G. Este protocolo no se ha evaluado durante el estudio de NF Validation.

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

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

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

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

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

- No exceda la temperatura recomendada al configurar el calentador.
- No exceda el tiempo de calentamiento recomendado.



- Use un termómetro calibrado adecuado para verificar la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M™ (por ej., un termómetro de inmersión parcial o un termómetro digital termopar, no un termómetro de inmersión total). El termómetro debe colocarse en la ubicación designada en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M.

ATENCIÓN

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

- Cámbiese los guantes antes de hidratar los gránulos reactivos.
- Se recomienda usar puntas de pipetas estériles de calidad de biología molecular con barrera para aerosoles (puntas con filtro).
- Use una nueva punta de pipeta para cada transferencia de muestra.
- Use las Buenas Prácticas de Laboratorio para transferir la muestra del enriquecimiento al tubo de lisis. Para evitar la contaminación de la pipeta, el usuario puede elegir agregar un paso de transferencia intermedia. Por ejemplo, el usuario puede transferir cada muestra enriquecida a un tubo estéril.
- Use una estación de trabajo de calidad para biología molecular con una lámpara germicida, siempre que disponga de una.
- Descontamine periódicamente las mesas y el equipo de laboratorio (pipetas, herramientas para tapar/destapar, etc.) con una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) o en una solución para eliminación de DNA.

Para reducir los riesgos relacionados con un resultado falso positivo:

- Nunca abra los tubos después de la amplificación.
- Siempre deseche los tubos contaminados sumergiéndolos en una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) durante 1 hora y lejos del área en que se prepara el ensayo.
- Nunca abra los tubos de reactivos después de la amplificación.
- Si se sospecha que las muestras contienen niveles elevados de ADN de *Cronobacter* (es decir, ADN de células de *Cronobacter* no viables que hayan estado sujetas a un paso de eliminación/inactivación), los enriquecimientos presuntamente positivos se deben tratar con la DNasa antes del paso de **Lisis**. Comuníquese con su Representante de 3M para recibir instrucciones adicionales. Este protocolo no se ha evaluado durante el estudio de NF Validation.

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

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

Responsabilidad del usuario

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

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

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

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

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

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

Una matriz se puede definir como un tipo de producto con propiedades intrínsecas, tales como composición y proceso. Las diferencias entre las matrices pueden ser tan simples como los efectos provocados por las diferencias en su procesamiento o presentación, por ejemplo, crudo o pasteurizado, fresco o deshidratado, etc.

Limitación de garantías / Recurso limitado

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

Limitación de responsabilidad de 3M

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

Almacenamiento y desecho

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

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

Instrucciones de uso

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

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

El usuario debe completar la capacitación de calificación del operador (OQ) del Sistema de Detección Molecular 3M según se describe en el documento “Protocolos de Calificación para la Instalación (IQ)/Calificación Operativa (OQ) e Instrucciones para el Sistema de Detección Molecular 3M”⁽⁶⁾.

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

La Tabla 3 para los protocolos de enriquecimiento según el OAOAC® *Official Method of Analysis*SM 2018.01 y el Certificado *Performance Tested*SM n.º 101703.

La Tabla 4 de los protocolos de enriquecimiento según el certificado NF VALIDATION 3M 01/20-03/18.

Enriquecimiento de la Muestra

Las Tablas 2, 3 o 4 presentan una guía para los protocolos de enriquecimiento de muestras ambientales y de alimentos.

Es responsabilidad del usuario validar protocolos de muestreo o enriquecimiento, o proporciones de dilución alternativos para garantizar que este método de prueba satisface los criterios del usuario.

Alimentos, polvos ambientales, polvos, barreduras y esponjas

1. Equilibre el medio de enriquecimiento a la temperatura ambiente de la sala (20-25 °C) a menos que el protocolo de enriquecimiento indique lo contrario (Consulte la Tabla 2, 3 o 4).

2. Combine asépticamente el medio de enriquecimiento y la muestra y homogenice mediante mezclado, un homogeneizador peristáltico o a mano durante $2 \pm 0,2$ minutos **o hasta que todos los grumos se hayan disuelto por completo y la suspensión de enriquecimiento sea homogénea**^(7, 8).
 - a. Los factores como la preparación de la muestra, incluso la homogenización y mezclado, manipulación y técnicas de laboratorio pueden influir sobre los resultados.
 - b. Para muestras con alto contenido de partículas, se recomienda utilizar bolsas con filtro.
 - c. Para matrices que se expanden en agua y son ampliamente viscosas (por ejemplo, cereales, almidones), se sugiere hacer más diluciones ($> 1:10$) hasta que la viscosidad se haya reducido de manera adecuada o agregue 1% (p/v) de alfa-amilasa a BPW (ISO)⁽⁹⁾.
 - d. Para muestras de gran tamaño de cereales, agregue el cereal en polvo lentamente al líquido mezclando frecuentemente para evitar los grumos.
3. Incube como se indica en la tabla del protocolo que corresponda (Consulte la Tabla 2, 3 o 4).

Tabla 2. Protocolos Generales de Enriquecimiento

Matriz de Muestreo	Tamaño de la muestra ¹	Volumen del caldo de enriquecimiento ^{1,2}	Temperatura de enriquecimiento ($\pm 1^\circ\text{C}$)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra
Fórmula en polvo para lactantes (Powdered infant formula, PIF) y materias primas tales como leche en polvo, polvo de soja, suero en polvo, lactosa, harina de arroz y maltodextrina	Muestra de 1X gramos	9X ml de BPW (ISO) (1:10)	37	18-24	20 μl
Materias primas como sales, minerales, aminoácidos, DHA (ácido docosahexaenoico)	1X gramos Muestra de	99X ml de BPW (ISO) (1:100)	37	18-24	20 μl
Muestras ambientales secas como polvo, barreduras y suciedad aspirada	Muestra de 1X gramos	9X ml de BPW (ISO) (1:10)	37	18-24	20 μl
Esponja ambiental con 10 ml de caldo de Letheen o D/E Caldo Neutralizante	1 dispositivo de muestreo	90 ml de BPW (ISO) (1:10)	37	18-24	20 μl

1. 3M ha evaluado el Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* usando las proporciones de dilución que se indican en la Tabla 2 hasta 300 g. Es responsabilidad del usuario validar protocolos o las proporciones de dilución alternativos para garantizar que este método de prueba satisface los criterios del usuario.
2. Use BPW (ISO) **precalentada** si el volumen del caldo de enriquecimiento es >300 ml (por ejemplo, si la muestra es >30 gramos).

Instrucciones Específicas para Métodos Validados

AOAC® *Official Method of Analysis*SM (OMA) 2018.01

AOAC® *Performance Tested*SM (PTM) N.º de certificado 101703



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

Tabla 3. Protocolos de enriquecimiento según AOAC® OMASM 2018.01 y PTMSM101703

Matriz de Muestreo	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento ¹	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra
Fórmula en polvo para lactantes y cereal en polvo para lactantes	10 g	90 ml de BPW (ISO) (1:10)	37	18-24	20 µl
Cereal en polvo para lactantes no probiótico	300 g	2700 ml de BPW (ISO) (1:10)	Precalentada 37	18-24	20 µl
Fórmula en polvo para lactantes y cereal en polvo para lactantes con probióticos	300 g	2700 ml de BPW (ISO) + 10 mg/l de vancomicina	Precalentada 37	22-24	20 µl
Lactosa	10 g	90 ml de BPW (ISO) (1:10)	37	18-24	20 µl
Esponja ambiental con 10 ml de D/E Caldo Neutralizante D/E	1 dispositivo de muestreo	90 ml de BPW (ISO) (1:10)	37	18-24	20 µl

1. Use BPW (ISO) **precalentada** si el volumen del caldo de enriquecimiento es >300 ml.

NF VALIDATION por AFNOR Certification



3M 01/20-03/18

METODOS ALTERNATIVOS DE ANÁLISIS PARA LA AGROINDUSTRIA

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

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

Método certificado de NF VALIDATION en cumplimiento de la norma ISO 16140-2⁽⁹⁾ comparada con la norma ISO 22964.

Alcance de la validación: Fórmula en polvo para lactantes y cereal en polvo para lactantes con y sin probióticos, materias primas y muestras ambientales.

Preparación de la muestra: Las muestras se deben preparar según las normas EN ISO 22694⁽²⁾ y EN ISO 6887^(7, 8).

Versión de Software: Consulte el certificado.



Tabla 4. Protocolos de enriquecimiento según el método certificado de NF VALIDATION 3M 01/20-03/18.

Matriz de Muestreo	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento ¹	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra	Punto de interrupción recomendado ^{2, 3}
<ul style="list-style-type: none"> Fórmula en polvo para lactantes Cereal en polvo para lactantes Ingredientes como leche en polvo, polvo de soja, suero en polvo, lactosa, harina de arroz, maltodextrina Muestras ambientales secas como polvo, barreduras y suciedad aspirada, 	10 g	90 ml de BPW (ISO) (1:10)	37	18-24	20 µl	El caldo de enriquecimiento o el lisado de muestra se puede almacenar a 2-8 °C por hasta 72 horas.
<ul style="list-style-type: none"> Esponja, agua de enjuague, paños 	1 dispositivo de muestreo o 10 ml					El caldo de enriquecimiento o el lisado de muestra se puede almacenar a 2-8 °C por hasta 72 horas.
Fórmula en polvo para lactantes y cereal en polvo para lactantes (no probiótico)	30-300 g	BPW (ISO) (1:10)	37	18-24	20 µl	El caldo de enriquecimiento o el lisado de muestra se puede almacenar a 2-8 °C por hasta 72 horas.
Fórmula en polvo para lactantes y cereal en polvo para lactantes (incluso probióticos)	30-300 g	BPW (ISO) + 10 mg/l de vancomicina (1:10)	37	22-24	20 µl	Ninguno

- Use BPW (ISO) precalentada si el volumen del caldo de enriquecimiento es >300 ml (por ejemplo, si la muestra es >30 gramos).
- Después de extraer el caldo de enriquecimiento del almacenamiento, retome la prueba desde el Paso 1 en la sección Lisis. Después de extraer el lisado de muestra del almacenamiento, retome la prueba desde el Paso 7 en la sección Lisis.
- Consulte el Apéndice A para repetir las pruebas de lisados tratados con calor.

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

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

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

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

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

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

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

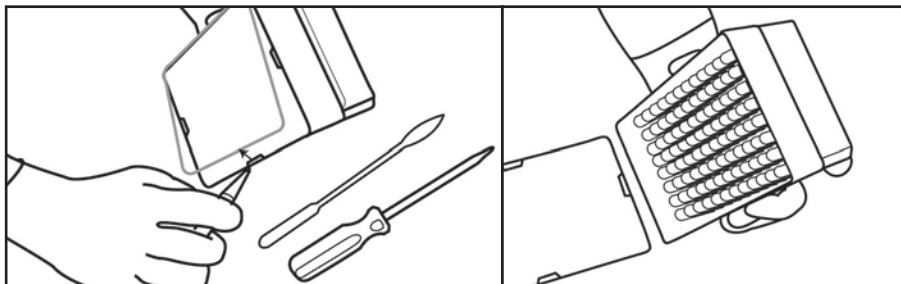
Preparación del Equipo de Detección Molecular 3M™

1. Inicie el Software de Detección Molecular 3M™ e inicie sesión. Comuníquese con su representante de 3M Food Safety para asegurarse de que cuenta con la versión más actualizada del software.
2. Encienda el Equipo de Detección Molecular 3M.
3. Cree o edite una corrida con datos para cada muestra. Para obtener detalles, consulte el Manual del Usuario del Sistema de Detección Molecular 3M.

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

Lisis

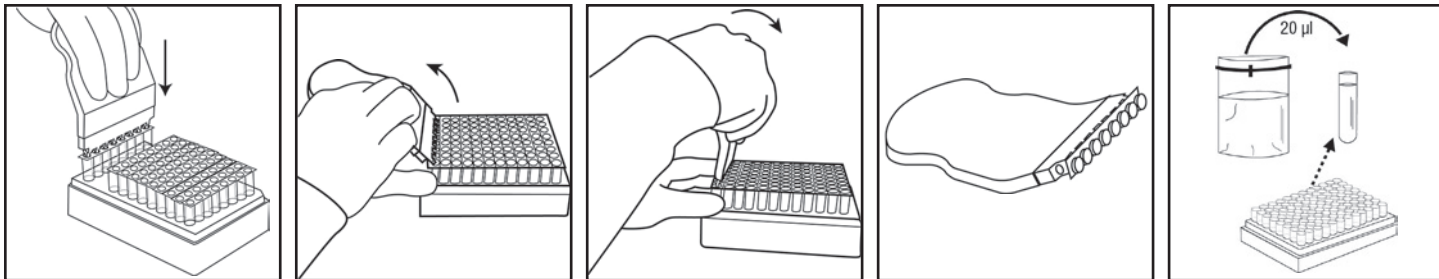
Retire la parte inferior de la Gradilla de Solución de Lisis de 3M con un destornillador antes de colocarlo en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M.



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

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

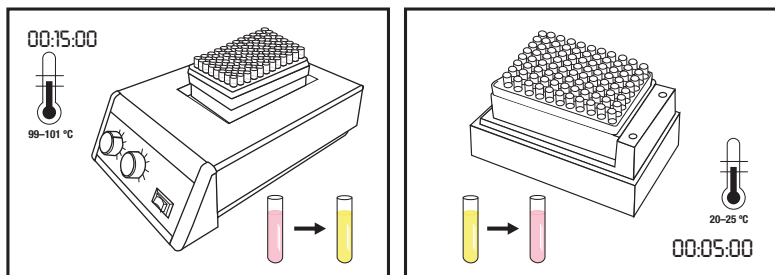
- 4.4 Utilice la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Lisis 3M™ para destapar una tira de tubos de Solución de Lisis 3M, una tira por vez.
- 4.5 Deseche la tapa del tubo de Solución de Lisis 3M; si se conservara el lisado para una repetición de prueba, coloque las tapas en un envase limpio para su reapiación luego de la lisis.
 - 4.5.1. Para ver cómo procesar el lisado conservado, consulte el Apéndice A.
- 4.6 Agite la bolsa de enriquecimiento antes de recolectar la muestra del lado filtrado cuando trabaje con muestras viscosas.
- 4.7 Transfiera 20 µl de la muestra a un tubo de Solución de Lisis 3M a menos que se indique de manera contraria en la tabla de protocolo.
5. Repita los pasos 4.4 a 4.7 hasta que cada muestra individual se haya agregado al correspondiente tubo de Solución de Lisis 3M de la tira.



6. Cuando se hayan transferido todas las muestras, transfiera 20 µl del NC (medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, BPW) a un tubo de Solución de Lisis 3M. No use agua como un NC.
7. Verifique que la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M sea de 100 °C ±1 °C.
8. Coloque la gradilla descubierta de tubos de Solución de Lisis 3M en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M y caliente durante 15 ±1 minutos. Durante el calentamiento, la Solución de Lisis 3M cambiará de rosado (frío) a amarillo (caliente).

Las muestras que no se hayan tratado debidamente con calor durante el paso de lisis del ensayo pueden considerarse un posible riesgo biológico y NO deben introducirse en el Equipo de Detección Molecular 3M.

9. Retire la gradilla descubierta de tubos Solución de Lisis 3M del bloque de calentamiento y deje que se enfríe en la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M al menos durante 5 minutos y por un máximo de 10 minutos. Cuando se usa la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M a temperatura ambiente sin la Bandeja para el Bloque de Frío del Sistema de Detección Molecular 3M™, debe colocarse directamente sobre el banco de laboratorio. Cuando esté frío, la Solución de Lisis 3M se revertirá a un color rosado.
10. Retire la gradilla de tubos de Solución de Lisis 3M de la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M.



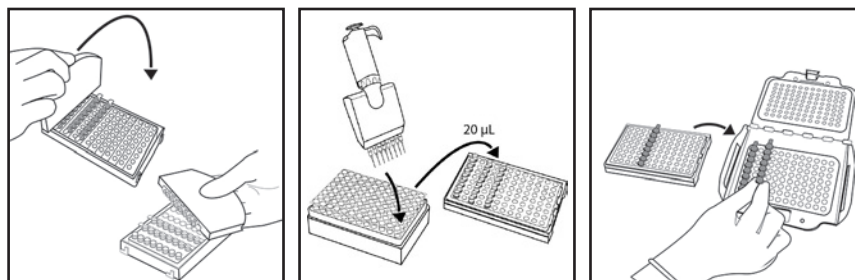
Amplificación

1. Se necesita un Tubo de Reactivos del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* por cada muestra y el NC.
 - 1.1 Las tiras de tubos pueden cortarse para obtener la cantidad de tubos deseada. Seleccione la cantidad de Tubos de Reactivos del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* o tiras de 8 tubos según sea necesario.
 - 1.2 Tubos de reactivos para el Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter*
 - 1.3 Evite mover las perlas de reactivo en el fondo de los tubos.
2. Seleccione un tubo de Control de Reactivos 3M y colóquelo en la gradilla.

3. Para evitar la contaminación cruzada, destape una tira de Tubos de Reactivos del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* por vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
4. Transfiera cada uno de los lisados a un Tubos de Reactivos del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* y a un Tubo de Control de Reactivos 3M como se describe a continuación:

Transfiera el lisado de cada muestra a los Tubos de Reactivos del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* **primero**, seguido por el NC. Hidrate el Tubo de Control de Reactivos 3M **al final**.

5. Use la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Reactivo 3M™ para destapar los Tubos de Reactivos del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter*, una tira de tubo a la vez. Desecha la tapa.
 - 5.1 **Transfiera 20 µl del lisado de muestra de la 1/2 superior del líquido (evite el precipitado) en el tubo de Solución de Lisis 3M que corresponde al Tubo de Reactivos del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter*. Aplique en un ángulo que permita evitar que se muevan los gránulos. Mezcle pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces.**
 - 5.2 Repita el paso 5.1 hasta que se haya añadido una muestra individual del lisado a un Tubo de Reactivos del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* en la tira.
 - 5.3 Cubra los Tubos de Reactivos del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* con las tapas adicionales provistas y utilice el lado redondeado de la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Reactivo 3M para aplicar presión con un movimiento hacia adelante y hacia atrás para asegurarse de que la tapa quede bien ajustada.
 - 5.4 Repita los pasos 5.1 a 5.3 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.
 - 5.5 Cuando se hayan transferido todos los lisados de la muestra, repita los pasos 5.1 a 5.3 para transferir 20 µl de lisado NC a un Tubo de Reactivos del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter*.
 - 5.6 Transfiera los **20 µl del lisado NC a un tubo de Control de Reactivos 3M**. Aplique en un ángulo que permita evitar que se muevan los gránulos. Mezcle pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces.
6. Cargue los tubos tapados en una Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M limpia y descontaminada. Cierre y trabe la tapa de la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M.



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

ATENCIÓN: Para minimizar el riesgo de falsos positivos a causa de contaminación cruzada, nunca abra tubos de reactivo que contengan DNA amplificado. Esto incluye un Tubo de Reactivo del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter*, el Control de Reactivos 3M y los Tubos de Control de Matriz 3M. Siempre deseche los tubos de reactivo sellados sumergiéndolos en una solución de cloro de uso doméstico del 1% al 5% (v:v en agua) durante una hora y lejos del área de preparación del ensayo.

Resultados e interpretación

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

NOTA: Incluso una muestra negativa no arrojará una lectura de cero, ya que los reactivos de amplificación del Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* tienen unidades relativas de luz de fondo (RLU).

Confirmación

- Confirmación de los resultados según el Método Certificado de NF Validation

En el contexto de NF VALIDATION, todos los enriquecimientos presuntamente positivos se deben confirmar siguiendo la confirmación del método de referencia⁽²⁾, comenzando con la transferencia desde el enriquecimiento primario (BPW ISO o BPW ISO suplementada con 10 mg/l de vancomicina).

- Otro protocolo de confirmación

Todos los enriquecimientos con resultados presuntamente positivos deben ser confirmados de acuerdo con los procedimientos operativos estándar del laboratorio o mediante la confirmación del método de referencia apropiado^(1,2), comenzando con la transferencia del medio de enriquecimiento primario (BPW ISO o BPW ISO suplementada con 10 mg/l de vancomicina) al secundario, seguido del subsiguiente sembrado en placa y la confirmación de cepas, utilizando métodos bioquímicos, serológicos o moleculares apropiados.

En el raro caso de que haya una interrupción inusual del suministro eléctrico, el algoritmo lo señalará como “Inspeccionar”. 3M recomienda al usuario repetir el ensayo para aquellas muestras etiquetadas como Inspeccionar. Si el resultado sigue siendo Inspeccionar, continúe con la prueba de confirmación usando su método preferido o según se especifique en las reglamentaciones locales^(1,2).

En caso de resultados discordantes (presuntamente positivo con el Ensayo 2 Detección Molecular 3M - *Cronobacter* no confirmado por alguno de los medios descritos anteriormente), el laboratorio debe seguir los pasos necesarios para asegurar la validez de los resultados obtenidos.

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

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

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

Referencias:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual (BAM) Ch. 29; MAR 2012
2. ISO 22964:2017 Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection of *Cronobacter* spp.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025:2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218:2007/Amd. 1:2013. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examination.
6. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. Contact your 3M Food Safety representative to obtain a copy of this document.
7. ISO 6887-5:2010. 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.
8. ISO 6887-4:2017. 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 miscellaneous products.
9. ISO 16140-2:2016. Microbiology of the food chain – Method validation – Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.

Consulte las versiones actuales de los métodos estándar enumerados anteriormente.

Explicación de los símbolos

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

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

3M Canada

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

3M Latin America

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

3M Europe and MEA

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

3M United Kingdom PLC

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

3M Österreich GmbH

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

3M Asia Pacific

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

3M Japan

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

3M Australia

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



3M Health Care

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

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8722-7982-2