

Instrucciones del producto

Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* MDA2LM096

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO Y USO PREVISTO

El Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M™ se usa junto con el Sistema de Detección Molecular 3M™ para la detección rápida y específica de especies de *Listeria* en muestras enriquecidas ambientales y de alimentos.

Los Ensayos de Detección Molecular 3M usan una amplificación isotérmica mediada por asas para amplificar rápidamente secuencias de ácidos nucleicos con alta especificidad y sensibilidad, combinada con bioluminiscencia para detectar la amplificación. Los resultados presuntivos positivos se reportan en tiempo real, mientras que los resultados negativos se revelan una vez terminado el ensayo. Los resultados presuntivos positivos se deben confirmar utilizando el método que usted prefiera o según lo especifiquen las regulaciones locales^{1,2,3}.

El Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M está previsto para su uso en laboratorios por parte de 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 documentó este producto para el análisis de muestras clínicas, veterinarias, cosméticas, farmacéuticas ni de agua. El Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M no ha sido evaluado con todos los protocolos de pruebas ni con todas las cepas de bacterias posibles.

Como sucede con todos los métodos de prueba, el tipo de medio de enriquecimiento puede afectar los resultados. 3M ha evaluado el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M con Caldo Demi-Fraser que contiene citrato de amonio férrico. A continuación se presenta una fórmula típica de este medio.

Fórmula típica de la Base de Caldo Demi-Fraser (g/l)

Cloruro de sodio	20 g
Fosfato de sodio, dibásico, anhidro*	9,6 g
Extracto de carne	5 g
Digerido pancreático de caseína	5 g
Digerido péptico de tejido animal	5 g
Extracto de levaduras	5 g
Cloruro de litio	3 g
Fosfato de potasio, monobásico	1,35 g
Esculina	1 g
Clorhidrato de acriflavina	0,0125 g
Ácido nalidíxico	0,01 g
* Sustituto: Fosfato de sodio, dibásico, deshidratado	12 g

Suplemento para Caldo Fraser

(Ingredientes por 10 ml de vial. Se agrega un vial a un litro de medio basal.)

Citrato de amonio férrico	0,5 g/10 ml
---------------------------	-------------

pH final 7,2 ± 0,2 a 25 °C.

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 cuenta con certificación de la Organización internacional para la estandarización (ISO) 9001 de diseño y fabricación.

El kit de pruebas del Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M contiene 96 pruebas, que se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Componentes del kit

Artículo	Identificación	Cantidad	Contenido	Comentarios
Tubos de Solución para la Lisis (LS)	Solución rosada en tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µl de LS por tubo	En gradillas y listos para usar
Tubos de reactivo para <i>Listeria monocytogenes</i>	Tubos amarillos	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mezcla de detección y amplificación específica liofilizada	Listo para usar
Tapas adicionales	Tapas amarillas	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listo para usar
Control de Reactivos (RC)	Tubos transparentes con tapa de bisagra	16 (2 bolsas de 8 tubos individuales)	Mezcla de detección y amplificación de control liofilizado de ADN	Listo para usar
Guía de Inicio Rápido		1		

El Control negativo, no provisto en el kit, es el medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, el Caldo Demi-Fraser. No use agua como un 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 de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M. Guarde las instrucciones de seguridad para referencia futura.

- ⚠ **ADVERTENCIA:** Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar la muerte o lesiones graves, y/o daños a la propiedad.
- ⚠ **PRECAUCIÓN:** Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar lesiones moderadas o menores, y/o daños a la propiedad.
- AVISO:** Indica una situación potencialmente peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar daños a la propiedad.

⚠ ADVERTENCIA

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

El método de Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M puede generar niveles de *Listeria monocytogenes* suficientemente elevados como para provocar, en caso de exposición, nacimientos de niños muertos y muertes en mujeres embarazadas y en las personas inmunocomprometidas.

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

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

- Siga el protocolo y realice las pruebas exactamente como se indica en las instrucciones del producto.
- Almacene el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M como se indica en el embalaje y en las instrucciones del producto.
- Siempre use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M antes de su fecha de vencimiento.
- Use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M con muestras ambientales y de alimentos que hayan sido validadas internamente o por un tercero.
- Use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M 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 con complejo de aril sulfonato, prepare una dilución 1:2 antes de la prueba (1 parte de la muestra en 1 parte de caldo de enriquecimiento estéril). Productos de manejo de muestras de 3M™ que incluyen una solución amortiguadora: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSSL10NB, HS10NB y HS119510NB.

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

- Es altamente recomendable que el personal femenino de los laboratorios conozca cuál es el riesgo para el feto en desarrollo que representa la infección de la madre resultante de la exposición a *Listeria monocytogenes*.
- Realice las pruebas de patógenos en un laboratorio debidamente equipado, bajo la supervisión de personal capacitado.
- 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 reactivo después de la amplificación.
- Deseche las muestras enriquecidas según los estándares actuales de la industria.

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 asociados con la contaminación ambiental:

- Proceda de acuerdo con los estándares actuales de la industria para el desecho de residuos contaminados.

⚠ PRECAUCIÓN

- 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.

AVISO

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

- Se recomienda usar puntas de pipetas estériles de calidad de biología molecular con barrera para aerosoles (filtradas).
- Use una punta de pipeta nueva para cada transferencia de muestra.
- Use las Buenas Prácticas de Laboratorio para transferir la muestra del medio de 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.

Para reducir los riesgos relacionados con un resultado falso positivo:

- Nunca abra los tubos después de la amplificación.
- Siempre deseche los tubos contaminados embebiéndolos 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.

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.

LIMITACIÓN DE GARANTÍAS / RECURSO LIMITADO

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 EE. UU.) o a su representante oficial de 3M Food Safety para obtener una Autorización de devolución de productos..

LIMITACIÓN DE LA 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 BENEFICIOS. En ningún caso la responsabilidad de 3M conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

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 retos microbianos y matrices apropiadas para satisfacer al usuario en cuanto a que el método de prueba cumple con los criterios necesarios.

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

Como sucede con cualquier método de prueba, los resultados obtenidos del uso de cualquier producto de 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 para las diferentes matrices de alimentos, 3M desarrolló 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 de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M. 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 causados por las diferencias en el procesamiento o la presentación, por ejemplo, la materia prima frente a productos pasteurizados; los alimentos frescos frente a los secos, etc.

ALMACENAMIENTO Y DESECHO

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

No use el Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M 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 de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M 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 encapuchado/desencapuchado, etc.) con una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) o en una solución para eliminación de ADN.

ENRIQUECIMIENTO DE LA MUESTRA

En la Tabla 2, se ofrece una guía para el enriquecimiento de muestras de alimentos y ambientales. Es responsabilidad del usuario validar protocolos de muestreo o proporciones de dilución alternativos para garantizar que este método de prueba satisface los criterios del usuario.

Alimentos

1. Permita que el medio de enriquecimiento de Caldo Demi-Fraser (que incluyen citrato de amonio férrico) se equilibre a la temperatura ambiente del laboratorio.
2. Combine el medio de enriquecimiento y la muestra de forma aséptica según la Tabla 2. Para todo tipo de carnes y muestras con alto contenido de partículas, se recomienda utilizar bolsas con filtro.
3. Homogenice totalmente mediante mezclado, un homogeneizador peristáltico o a mano durante $2 \pm 0,2$ minutos. Incube a 37 ± 1 °C según la Tabla 2.
4. Para productos lácteos crudos, transfiera 0,1 ml del enriquecimiento primario a 10 ml de Caldo Fraser. Incube a 37 ± 1 °C durante 20 a 24 horas.

Muestras ambientales

Puede usarse como dispositivo para recolección de muestras una esponja hidratada con una solución neutralizante para inactivar los efectos de los desinfectantes. 3M recomienda usar una esponja de celulosa libre de biocida. La solución neutralizante puede ser Caldo Neutralizante Dey-Engley (D/E) o Caldo Letheen. Se recomienda desinfectar el área después del muestreo.

ADVERTENCIA: Si decidiera usar una Solución Amortiguadora Neutralizante (NB) que contenga el complejo aril sulfonato como solución hidratante para la esponja, deberá preparar una dilución 1:2 (1 parte de muestra en 1 parte de caldo de enriquecimiento estéril) de la muestra ambiental enriquecida antes de realizar la prueba para reducir los riesgos asociados con un resultado falso negativo que provoque la diseminación del producto contaminado.

Se recomienda que el tamaño del área de muestreo para verificar la presencia o ausencia de patógenos en la superficie sea de no menos de 100 cm² (10 cm x 10 cm o 4" x 4"). Al hacer el muestreo con una esponja, cubra toda el área moviéndose en dos direcciones (de izquierda a derecha y luego desde arriba hacia abajo) o recolecte muestras ambientales según su protocolo de muestreo actual o de acuerdo con los lineamientos del Manual de Bacteriología Analítica (BAM) de la FDA⁽¹⁾, de la guía de Laboratorio de Microbiología (MLG) de la agencia de Servicio de Seguridad e Inspección de los Alimentos (FSIS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA)⁽²⁾ o de la norma ISO 18593⁽⁶⁾.

1. Permita que el medio de enriquecimiento de Caldo Demi-Fraser (que incluyen citrato de amonio férrico) se equilibre a la temperatura ambiente del laboratorio.
2. Combine el medio de enriquecimiento y la muestra de forma aséptica según la Tabla 2.
3. Homogenice totalmente mediante mezclado, un homogeneizador peristáltico o a mano durante 2 ± 0,2 minutos. Incube a 37 ± 1 °C durante 24 a 30 horas.

Tabla 2: Protocolos de enriquecimiento del Caldo Demi-Fraser

Matriz de la muestra	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (ml)	Temperatura de enriquecimiento (°C)	Tiempo de enriquecimiento (h)				
Carnes, aves, mariscos y pescados procesados con calor, cocidos, curados Productos lácteos procesados con calor/pasteurizados Productos agrícolas y vegetales Alimentos con múltiples componentes	25 g	225	37	24 a 30				
Muestras ambientales	1 esponja	100 o 225	37	24 a 30				
	1 hisopo	10	37	24 a 30				
Carnes, aves, mariscos y pescados crudos	25 g	475	37	28-32				
Matriz de la muestra	Enriquecimiento primario (Caldo Demi-Fraser)				Enriquecimiento secundario (Caldo Fraser)			Volumen de análisis de la muestra ^(a)
	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (ml)	Temperatura de enriquecimiento (°C)	Tiempo de enriquecimiento (h)	Tamaño de la muestra	Temperatura de enriquecimiento (°C)	Tiempo de enriquecimiento (h)	
Productos lácteos crudos	25 g	225	37	20 a 24	Transfiera 0,1 ml a 10 ml de Caldo Fraser	37	20 a 24	10 µl

(a) Volumen de la muestra transferida a los tubos de solución de Lisis. Consulte el paso 4.6 de la sección Lisis.

PREPARACIÓN DE LA BANDEJA DE CARGA RÁPIDA PARA EL SISTEMA DE DETECCIÓN MOLECULAR 3M™

1. Humedezca un paño 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™.
2. Enjuague la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M con agua.
3. Utilice una toalla desechable para secar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M.
4. 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 el Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M™ directamente sobre el banco de laboratorio (la Bandeja para el Bloque de Frío del Sistema de Detección Molecular 3M™ no se usa). Use el bloque de frío a temperatura ambiente del laboratorio (20 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 de calentamiento de bloques. Encienda la unidad de calentamiento de bloques 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 ± 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 ± 1 °C.

PREPARACIÓN DEL EQUIPO DE DETECCIÓN MOLECULAR 3M™

1. Inicie el Software de Detección Molecular 3M™ e inicie sesión.
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.

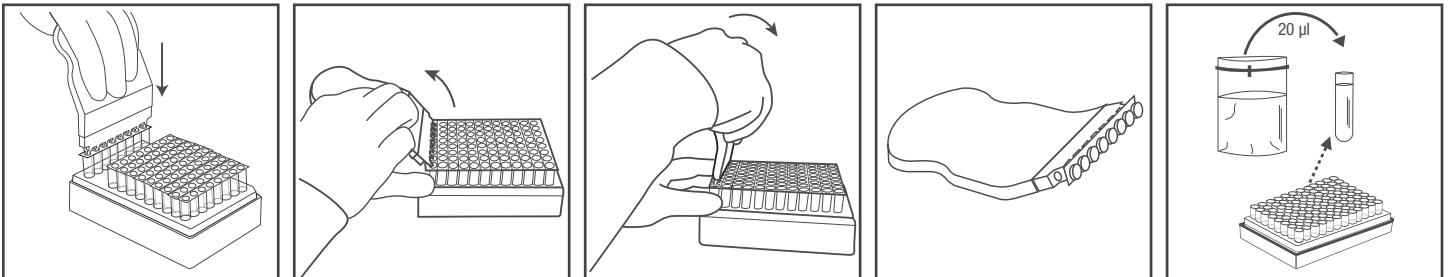
NOTA: El Equipo de Detección Molecular 3M debe alcanzar y mantener una temperatura de 60 °C antes de insertar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M con los tubos de reacción. Este paso de calentamiento lleva unos 20 minutos y aparece indicado por una luz ANARANJADA en la 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

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

Primero, transfiera cada muestra enriquecida a un tubo de LS. Transfiera el NC **al final**.

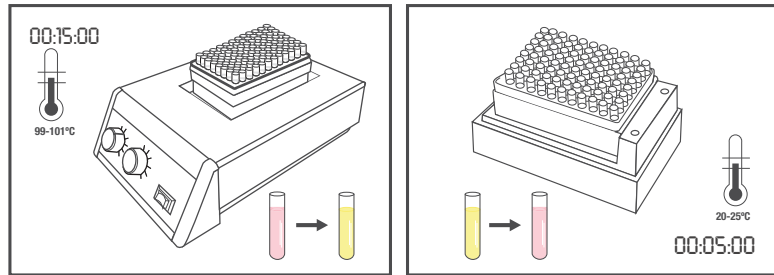
- 4.4 Utilice la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular - Lisis 3M™ para destapar una tira de tubos de LS, una tira por vez.
- 4.5 Deseche la tapa del tubo de LS; si se conservará el lisato para una repetición de prueba, coloque las tapas en un envase limpio para su reaplicación luego de la lisis. Para procesar el lisato conservado, consulte el Apéndice A.
- 4.6 Transfiera 20 µl de la muestra a un tubo de LS a menos que se indique de manera contraria en la tabla de protocolo.
5. Repita el paso 4.2 hasta que cada muestra individual se haya agregado al correspondiente tubo de LS de la tira.



6. Repita los pasos 4.1 a 4.6 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.
7. Cuando ya haya transferido todas las muestras, transfiera 20 µl de NC (medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, Caldo Demi-Fraser) a un tubo de LS. No use agua como un NC.
8. Verifique que la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M sea de 100 ± 1 °C.
9. Coloque la gradilla descubierta de tubos de LS en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M y caliente durante 15 ± 1 minutos. Durante el calentamiento, la solución de LS cambiará de rosado (frío) a amarillo (calor).

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.

10. Retire la gradilla descubierta de tubos de LS 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 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, debe colocarse directamente sobre el banco de laboratorio. Cuando esté frío, la solución para la lisis volverá a un color rosado.
11. Retire la gradilla de tubos de LS de la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M.

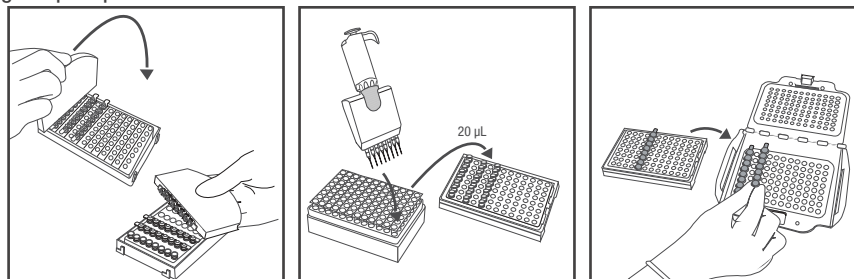


AMPLIFICACIÓN

1. Se requiere un tubo de reactivo para cada muestra y el NC.
 - 1.1 Las tiras de tubos de reactivo pueden cortarse para obtener la cantidad de tubos deseada. Seleccione la cantidad de tubos de reactivo individuales o de tiras de 8 tubos necesaria.
 - 1.2 Coloque los tubos de reactivo en una gradilla vacía.
 - 1.3 Evite mover las perlas de reactivo en el fondo de los tubos.
2. Seleccione 1 tubo de Control de Reactivos (RC) y colóquelo en la gradilla.
3. Para evitar la contaminación cruzada, destape una tira de tubos de reactivo por vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
4. Transfiera el lisato a los tubos de reactivo y al tubo de RC como se indica a continuación:

Transfiera cada lisato de muestra a un tubo de reactivo individual **primero** y luego el NC. Hidrate el tubo de RC **al final**.

5. Utilice la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular - Reactivo 3M™ para destapar una tira de tubos de reactivo, una tira por vez. Deseche la tapa.
 - 5.1 Transfiera 20 µl de lisato de muestra en el tubo de LS al tubo de reactivo correspondiente. Viértalo en ángulo para evitar que se muevan las perlas. Mezcle pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces.
 - 5.2 Repita el paso 5.1 hasta que cada lisato de muestra individual se haya agregado al correspondiente tubo de reactivo de la tira.
 - 5.3 Cubra los tubos de reactivo con la tapa adicional provista 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 el paso 5.1 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.
 - 5.5 Cuando ya haya transferido todos los lisatos de muestra, repita el paso 4.1 para transferir 20 µl de lisato de NC a un tubo de reactivo.
 - 5.6 Transfiera **20 µl de lisato de NC a un tubo de RC**. Viértalo en ángulo para evitar que se muevan las perlas. 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 75 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 embebiéndolos 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.

AVISO: Para minimizar el riesgo de falsos positivos a causa de contaminación cruzada, nunca abra tubos de reactivo que contengan ADN amplificado. Esto incluye tubos de Control de Reactivos, reactivos y control de matriz. Siempre deseche los tubos de reactivo sellados embebiéndolos 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.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

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

Las muestras con resultados presuntivos positivos deben ser confirmadas de acuerdo con los procedimientos de operación estándares del laboratorio o mediante la confirmación del método de referencia apropiado^(1,2,3), comenzando con la transferencia del enriquecimiento primario al caldo de enriquecimiento secundario (si se aplica), seguido del subsiguiente sembrado en placa y la confirmación de cepas, utilizando métodos serológicos y bioquímicos apropiados.

NOTA: Incluso una muestra negativa no arrojará una lectura de cero, ya que los reactivos de amplificación del Ensayo de Detección Molecular 2 para *Listeria monocytogenes* 3M cuentan con una unidad de luz relativa (RLU) "de fondo".

En el extraño caso de que se produjera una cantidad de luz inusual, el algoritmo lo etiquetará como "Inspeccionar". 3M recomienda al usuario repetir el ensayo para aquellas muestras etiquetadas como Inspeccionar. Si el resultado continúa siendo Inspeccionar, proceda con la prueba de confirmación utilizando el método que usted prefiera o según lo especifiquen las regulaciones locales

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.

REFERENCIAS:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analysis Manual. Chapter 10: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Section C-6. April 2011 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 8.08. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples. Effective Date: 6 Nov 2012.
3. ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Amendment 1, 2004-10-15.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. ISO 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

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

1. Para almacenar un lisato tratado con calor, vuelva a taponar el tubo de lisis con una tapa limpia (consulte "Lisis", 4.5).
2. Almacene de 4 a 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 lisato mezclados en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M y caliéntelos a 100 ± 1 °C durante 5 ± 1 minutos.
6. Retire la gradilla descubierta de tubos de LS 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.

EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS DE LA ETIQUETA DEL PRODUCTO



Precaución o Advertencia, consulte las instrucciones del producto.



Consulte las instrucciones del producto.



El lote en una caja representa el número de lote.



A continuación del reloj de arena, aparecen un mes y un año que representan la fecha de vencimiento.



Limitaciones para la temperatura de almacenamiento.

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 Europe and MEA

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

3M Latin America

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

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 55144-1000 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2015, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8716-8556-5