

Instrucciones del Producto

Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*)

Descripción del producto y uso previsto

El 3M™ Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) se usa con el Sistema de Detección Molecular 3M™ para la detección rápida y específica del gen de la toxina Shiga (*stx1* y/o *stx2*) y el gen intimina (*eae*) de *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC, también conocida como “*E. coli* productora de verocitotoxina”) en muestras ambientales de procesos de alimentos y alimentos enriquecidos. El término STEC se refiere a los patotipos de *E. coli* capaces de producir la toxina Shiga tipo 1 (Stx1), tipo 2 (Stx2) o ambas, codificados por los genes *stx1* y *stx2*, respectivamente. Las STEC que contienen genes de virulencia para *stx1* y/o *stx2* y *eae* (gen intimina involucrado en el fenotipo de adherencia y destrucción) son designados como *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). El kit de detección contiene dos tubos de reactivo separados, uno para detectar los genes de virulencia *stx1* y/o *stx2* y el otro para detectar los *eae* de STEC (EHEC). El software del Sistema de Detección Molecular 3M™ informa los resultados por separado para cada uno de los ensayos y utiliza los resultados de ambos ensayos para denominar la muestra positiva o negativa para STEC (EHEC). Para un presunto positivo de STEC (EHEC), ambos objetivos genéticos (*stx1* y/o *stx2* y *eae*) deben ser positivos. El ensayo de *stx* no distingue entre *stx1* y *stx2*, pero detecta la presencia de *stx1* y/o *stx2*.

El 3M Sistema de Detección Molecular usa amplificación isotérmica mediada por asas para amplificar rápidamente las secuencias de ácidos nucleicos 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 el método que se prefiera^(1, 2, 3) o según lo especifiquen las regulaciones locales.

El 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) está previsto para el uso en laboratorios con 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 o farmacéuticas. El 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) no ha sido evaluado con todos los productos alimenticios ni todos los procesos alimenticios, tampoco con todos los protocolos de evaluación 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 pueden influir sobre los resultados. Factores tales como los métodos de muestreo, los protocolos de análisis, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio también pueden afectar los resultados. 3M recomienda la evaluación del método lo que incluye el medio de enriquecimiento usando un número suficiente de muestras en alimentos representativos y con exposición a ciertas cepas o bacterias desafiantes para garantizar que el método satisface los criterios del usuario en su propio entorno.

3M ha evaluado el 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) con agua peptonada tamponada (BPW)-ISO como caldo de enriquecimiento.

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 microorganismos 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 prueba del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) contiene 48 pruebas de cada uno de los reactivos de *stx* y *eae*, que se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Componentes del kit del 3M Sistema 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 gradilla y lista para usar
Tubos de reactivo del 3M™ Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (<i>stx</i>)	Tubos naranjas	48 (2 bolsas con 3 tiras de 8 tubos)	Mezcla de detección y amplificación específica liofilizada	Listos para usar
Tubos de reactivo del 3M™ Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (<i>eae</i>)	Tubos rojos	48 (2 bolsas con 3 tiras de 8 tubos)	Mezcla de detección y amplificación específica liofilizada	Listos para usar
Tapas adicionales	Tapas naranjas	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listos para usar
Tapas adicionales	Tapas 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 DNA	Listos para usar

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

Puede encontrar una guía de inicio rápido en www.3M.com/foodsafety

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y seguir toda la información de seguridad incluida en las instrucciones para el Sistema de Detección Molecular 3M y el 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*). Guarde las instrucciones de seguridad para consultas futuras.

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

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

⚠ ADVERTENCIA

No utilice el 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) para el diagnóstico de afecciones en seres humanos o animales.

El usuario debe capacitar a su personal en lo que respecta a las técnicas de prueba adecuadas, por ejemplo, Buenas prácticas de laboratorio⁽⁴⁾, ISO/IEC 17025⁽⁵⁾ o ISO 7218⁽⁶⁾.

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 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) como se indica en el embalaje y en las instrucciones del producto.
- Siempre utilice el 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) antes de su fecha de vencimiento.
- Utilice el 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) con muestras ambientales y de alimentos que hayan sido validadas internamente o por un tercero.
- Utilice el 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) solo con cepas bacterianas, superficies, desinfectantes y protocolos que hayan sido validados internamente o por un tercero.
- En el caso de muestras ambientales que contengan una solución amortiguadora neutralizante 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 muestra de la solución amortiguadora neutralizante enriquecida a los tubos de Solución de Lisis 3M. Productos para la manipulación de

muestras 3M™ que incluyen una Solución Amortiguadora Neutralizante con el complejo aril sulfonato: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G y HS2410NB2G.

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 de acuerdo con las normas regulatorias locales/regionales/nacionales actuales.
- 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.

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™ (p. 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 (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 de reactivos 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 ponga en autoclave los tubos de reactivos después de la amplificación.

Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información y conocer las normativas 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, la técnica de laboratorio y la muestra en sí 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 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 Detección Molecular 3M para determinar si la matriz tiene la capacidad de influir en los resultados del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*). 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 su procesamiento o presentación, por ejemplo, productos crudos versus pasteurizados; alimentos frescos versus secos, etc.

Limitación de garantía/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 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.

Almacenamiento y desecho

Almacene el 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) a 2 °C-8 °C (35 °F-47 °F). 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 2 °C-8 °C (35 °F-47 °F) durante no más de 90 días.

No utilice el 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) 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 usarlo, el medio de enriquecimiento y los tubos del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) podrían contener material 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 normativas 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"⁽⁷⁾.

Consulte la sección “Instrucciones específicas para métodos validados” para obtener requisitos específicos. Tabla 3 para los protocolos de enriquecimiento según el *Performance Tested Method*SM (PTM) N.º de certificado 071902.

Enriquecimiento de la muestra

En las Tablas 2 y 3 se presenta una guía para los protocolos de enriquecimiento generales para alimentos.

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 BPW ISO se equilibre a 41,5 °C ± 1 °C.
2. Combine el medio de enriquecimiento y la muestra de forma aséptica. Para todas las muestras con alto contenido de partículas y carne, se recomienda utilizar bolsas con filtro.
3. Mezcle todas las matrices e incúbelas como se resume en la tabla del protocolo correspondiente (consulte la Tabla 2 o la Tabla 3).

Muestras ambientales

ADVERTENCIA: Si decidiera usar una solución amortiguadora neutralizante 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 liberación del producto contaminado. Otra opción es transferir 10 µL de la muestra de la solución amortiguadora neutralizante enriquecida a los tubos de Solución de Lisis 3M.

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.

Tabla 2. Protocolos Generales de Enriquecimiento.

Matriz de la muestra	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (mL) (precalentado)	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra (µL)
Carne de res molida cruda, trozos y recortes ^(a)	375 g	1125 BPW-ISO	41,5	10-18	20
Carne cruda (cerdo, carne de ave, cordero, bisonte) ^(a)	375 g	1125 BPW-ISO	41,5	10-18	20
vegetales de hoja ^(b)	200 g	450 BPW-ISO	41,5	18-24	20
germinados ^(c)	25 g	225 BPW-ISO	41,5	18-24	20
productos lácteos crudos ^(d)	25 g o 25 mL	225 BPW-ISO	41,5	18-24	20

^(a) Masajee con las manos las muestras de carne de res (carne de res molida, trozos y recortes) y de carne cruda (cerdo molido, carne de ave y carne que no sea de res) entre 30 y 60 segundos para dispersar y desintegrar los grumos después de agregar BPW-ISO precalentada.

^(b) En el caso de las vegetales de hoja, enjuague el caldo de enriquecimiento (BPW-ISO precalentada) sobre las hojas y agite suavemente entre 30 y 60 segundos. No masajee ni homogeneice las hojas.

^(c) En el caso de los germinados, enjuague el caldo de enriquecimiento (BPW-ISO precalentada) sobre los germinados entre 30 y 60 segundos sin masajear ni homogeneizar.

^(d) Homogeneice las muestras de productos lácteos crudos entre 30 y 60 segundos después de agregar BPW-ISO precalentada.

Instrucciones específicas para métodos validados
AOAC® Performance Tested MethodSM (PTM) N.º de certificado 071902



En los estudios de AOAC Research Institute PTMSM, se halló que el 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) es un método efectivo para la detección de STEC. Las matrices evaluadas en el estudio se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Protocolos de enriquecimiento según AOAC PTMSM N.º de certificado 071902.

Matriz de la muestra	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (mL)	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra (µL)
Recorte de carne de res cruda ^(a)	375 g	1125 BPW-ISO (precalentada)	41,5	10-18	20
Carne de res molida cruda ^(a)	375 g	1125 BPW-ISO (precalentada)	41,5	10-18	20
Carne de res molida cruda ^(a)	25 g	225 BPW-ISO (precalentada)	41,5	10-18	20
Carne de cerdo molida cruda ^(a)	375 g	1125 BPW-ISO (precalentada)	41,5	10-18	20
Piezas crudas de carne de ave ^(a)	375 g	1125 BPW-ISO (precalentada)	41,5	10-18	20
Espinacas ^(b)	200 g	450 BPW-ISO (precalentada)	41,5	18-24	20
germinados ^(c)	25 g	225 BPW-ISO (precalentada)	41,5	18-24	20

^(a) En el caso de las muestras de carne de res (carne de res molida y recortes), agregue BPW-ISO precalentada a la muestra de carne de res. Masajee con las manos entre 30 y 60 segundos para dispersar y desintegrar los grumos.

^(b) En el caso de las espinacas, agregue BPW-ISO precalentada a la matriz. Enjuague el líquido sobre las hojas y agite suavemente entre 30 y 60 segundos. No masajee ni homogeneice las hojas.

^(c) En el caso de los germinados, enjuague el caldo de enriquecimiento (BPW-ISO precalentada) sobre los germinados entre 30 y 60 segundos sin masajear ni homogeneizar.

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

1. 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.
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 la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M directamente sobre la mesa de 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-25 °C).

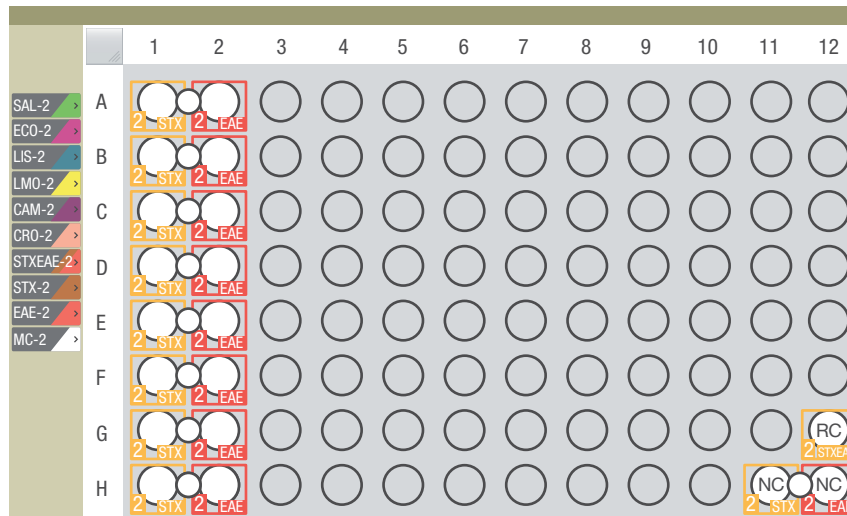
Preparación del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M™

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 (p. 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™

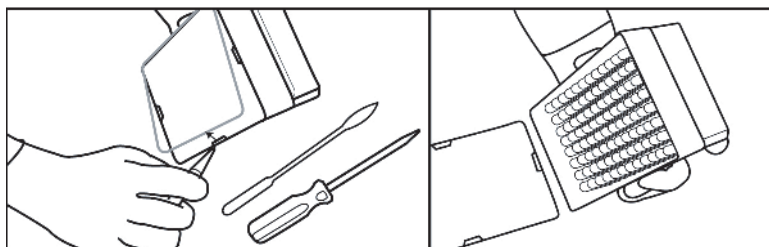
1. Inicie el software del Sistema de Detección Molecular 3M e inicie sesión. Contacte a su representante de 3M Food Safety para asegurarse de que tiene la última versión del software.
2. Encienda el Equipo de Detección Molecular 3M.
3. Cree o edite un ensayo con datos para cada muestra. Para obtener detalles, consulte el Manual del Usuario del Sistema de Detección Molecular 3M.
 - 3.1. La selección del ícono STXEAE-2 en el software selecciona dos pozos contiguos (como A1, A2, B1, B2, etc.), uno para el tubo de reactivo de eae y el otro para stx, puesto que cada muestra se hace con dos ensayos. El NC se configura para cada tubo de reactivo y un RC se configura para el kit.



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 un ensayo, la barra de estado se cambiará a color VERDE.

Lisis

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

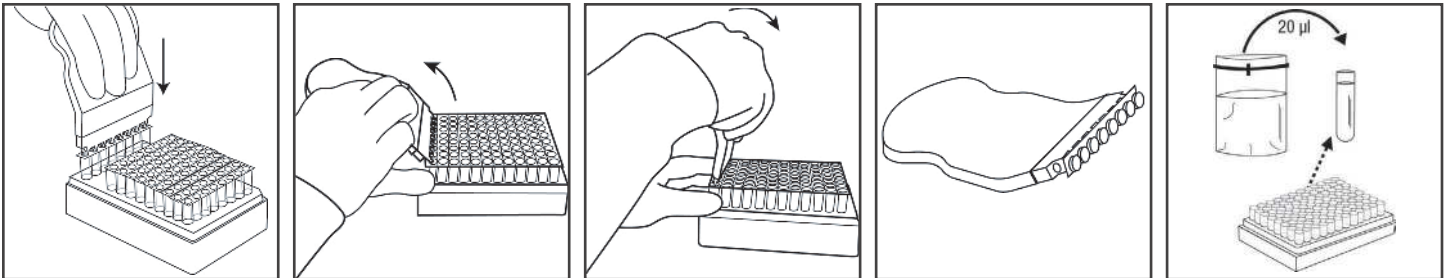


1. Permita que los tubos de Solución de Lisis 3M se calienten colocando la gradilla a temperatura ambiente (20 °C-25 °C) durante la noche (16-18 horas). Las alternativas para que los tubos de Solución de Lisis 3M alcancen temperatura ambiente son colocar los tubos de Solución de Lisis 3M sobre la mesa de laboratorio durante por lo menos 2 horas, incubar los tubos de Solución de Lisis 3M en una incubadora a 37 °C ± 1 °C durante 1 hora o colocarlos en una unidad de calentamiento de dos bloques seca durante 30 segundos a 100 °C.

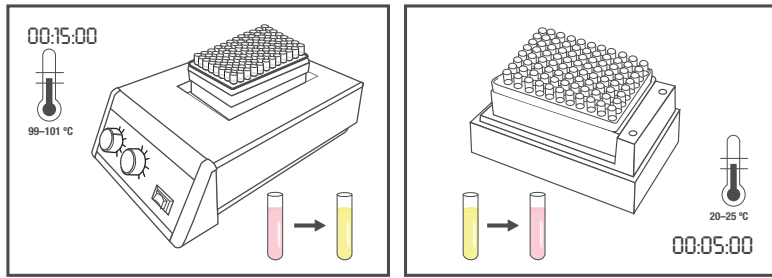
2. Invierta los tubos tapados para mezclarlos. Proceda con el paso siguiente dentro de las 4 horas después de la inversión.
3. Retire la muestra enriquecida de la incubadora.
4. Se requiere un tubo de Solución de Lisis 3M para cada muestra y el NC (medio de enriquecimiento estéril).
 - 4.1. Las tiras de tubos de Solución de Lisis 3M pueden cortarse para obtener la cantidad deseada de tubos. Seleccione la cantidad de tubos 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 tubo 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 tapar/destapar del Sistema de Detección Molecular – Lisis 3M™ para destapar una tira de tubo de Solución de Lisis 3M, una tira a la vez.
- 4.5. Deseche la tapa del tubo de Solución de Lisis 3M; si se conservará el lisado para una repetición de prueba, coloque las tapas en un envase limpio para su reutilización luego de la lisis.
 - 4.5.1. Para procesar el lisado conservado, consulte el Apéndice A.
- 4.6. Transfiera 20 µL de muestra a un tubo de Solución de Lisis 3M.

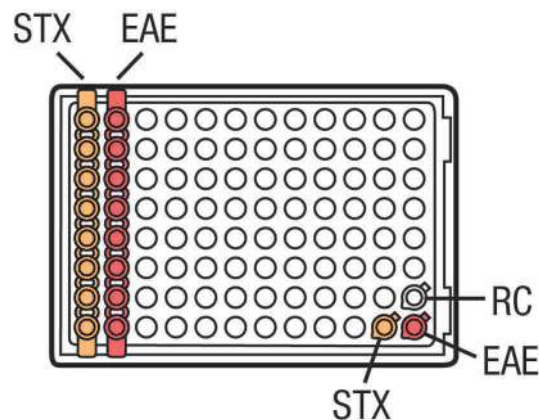


5. Repita los pasos 4.4 a 4.6 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.
6. Cuando se hayan transferido todas las muestras, transfiera 20 µL del NC (medio de enriquecimiento estéril, p. ej., BPW) a un tubo de Solución de Lisis 3M. No use agua como un NC.
7. Verifique que 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).
 - 8.1. 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 de Solución de Lisis 3M del Bloque de Calor para la Detección Molecular 3M 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 del Sistema de Detección Molecular 3M a temperatura ambiente sin la Bandeja para el Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M™, debe colocarse directamente sobre la mesa 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

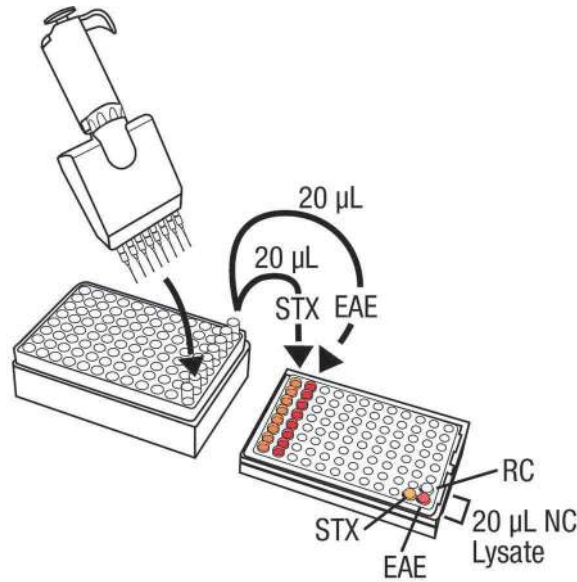
1. Para cada muestra y el NC, se requiere un tubo de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*eae*) y uno del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx*).
 - 1.1. Las tiras de tubos pueden cortarse para obtener la cantidad deseada de tubos. Seleccione la cantidad de tubos de reactivos individuales del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*eae*) y del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx*) o las tiras de 8 tubos que se necesitan.
 - 1.2. Coloque los tubos del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx*) en una gradilla vacía en una columna.
 - 1.3. Coloque los tubos del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*eae*) en la columna derecha contigua.
 - 1.4. 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 el lisado NC, seleccione un tubo de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx*) y un tubo de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*eae*) y colóquelos en la gradilla.



4. Para evitar la contaminación cruzada, destape una tira de tubos de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* o *eae*) por vez y utilice una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
5. Transfiera cada uno de los lisados a un tubo de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* o *eae*) como se describe a continuación.
 - 5.1. Primero, transfiera cada uno de los lisados de muestra a un tubo de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx*) como se describe en los pasos 5.5 y en 5.6.
 - 5.2. Segundo, transfiera cada uno de los mismos lisados de muestra a un tubo de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*eae*) en la columna derecha contigua como se describe en los pasos 5.5 y en 5.6.

NOTA: Use una nueva punta de pipeta para cada transferencia. No utilice la misma punta de pipeta para transferir al tubo de reactivo de *stx* y *eae* desde la misma muestra de lisado.

- 5.3. Después de transferir todo el lisado de muestra, agregue el lisado NC a cada uno de los tubos de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx*) y del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*eae*).
- 5.4. Transfiera el lisado NC al final al tubo de control de reactivos.



- 5.5. Utilice la Herramienta para tapar/destapar del 3M™ Sistema de Detección Molecular – Reactivo para destapar los tubos de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* o *eae*), una tira por vez. Deseche la tapa.
- 5.6. **Transfiera 20 µL del lisado de muestra de la ½ superior del líquido (evite el precipitado) en el tubo de Solución de Lisis 3M al tubo de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* o *eae*) correspondiente. Aplique en un ángulo que permita evitar que se muevan los gránulos. Mezcle pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces.**

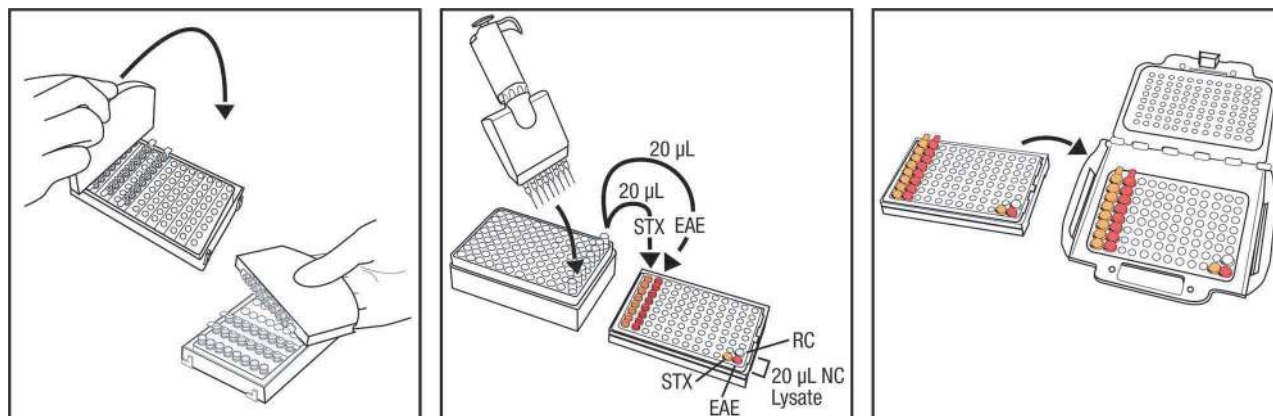
NOTA: Use una nueva punta de pipeta para cada transferencia. No utilice la misma punta de pipeta para transferir al tubo de reactivo de *stx* y *eae* desde la misma muestra de lisado.

- 5.7. Repita el paso 5.6 hasta que se haya agregado el lisado de muestra individual a un tubo de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* o *eae*) correspondiente en la tira.
- 5.8. Cubra los tubos de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* o *eae*) con las tapas adicionales provistas y utilice el lado redondeado de la Herramienta para tapar/destapar del 3M Sistema de Detección Molecular – Reactivo para aplicar presión con un movimiento hacia adelante y hacia atrás para asegurarse de que la tapa quede bien ajustada.
- 5.9. Repita los pasos 5.6 a 5.8 según sea necesario para la cantidad de muestras que se analizarán para ambos tubos de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*).
- 5.10. Cuando se hayan transferido todos los lisados de muestra, repita los pasos 5.6 a 5.8 para transferir 20 µL del lisado NC a cada uno de los tubos de reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx*) y del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*eae*).
- 5.11. **Transfiera 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.

Transfiera cada lisado de muestra a un tubo de reactivo individual del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* o *eae*) primero, seguido por el NC. Hidrate el tubo de Control de Reactivos 3M al final.



6. Cargue los tubos tapados en una Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M limpia y descontaminada. Luego cierre la tapa.



7. Revise y confirme la corrida configurada en el software del Sistema 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. Después de completar 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 los tubos de Control de Matriz 3M, el Control de Reactivos 3M y el reactivo del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*). Siempre deseche los tubos de reactivo sellados sumergiéndolos en una solución de cloro de uso doméstico al 1 % a 5 % (v:v en agua) durante 1 hora y lejos del área en que se prepara el análisis.

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.

El software del Sistema de Detección Molecular 3M informa los resultados por separado para cada uno de los ensayos (*stx* y *eae*) y utiliza los resultados de ambos ensayos para llamar a la muestra positiva o negativa de STEC (EHEC) (consulte la Figura que aparece a continuación). Para un presunto positivo de STEC (EHEC), ambos objetivos genéticos (*stx1* y/o *stx2* y *eae*) deben ser positivos. **Si alguno de los ensayos individuales indica un error o que se debe inspeccionar, el resultado final será error o inspeccionar. Repita la prueba para obtener el resultado final debido** (consulte las claves de resultados). El software también permite configurar ensayos individuales si es necesario y el lisado de muestra o el lisado fresco del enriquecimiento pueden volver a analizarse con los ensayos siguiendo los pasos que se resumen en el Apéndice A para los lisados conservados y los pasos en la sección Lisis y Amplificación para el enriquecimiento conservado.

Claves de resultados del lisado de muestra enriquecido

	Ambos positivos, resultado final positivo
	stx positivo, eae negativo, resultado final negativo
	stx positivo, eae inspeccionar, resultado final inspeccionar, repita la prueba
	stx positivo, eae error, resultado final error, repita la prueba
	stx negativo, eae positivo, resultado final negativo
	stx negativo, eae negativo, resultado final negativo
	stx negativo, eae inspeccionar, resultado final inspeccionar, repita la prueba
	stx negativo, eae error, resultado final error, repita la prueba
	stx inspeccionar, eae positivo, resultado final inspeccionar, repita la prueba
	stx inspeccionar, eae negativo, resultado final inspeccionar, repita la prueba
	stx inspeccionar, eae inspeccionar, resultado final inspeccionar, repita la prueba
	stx inspeccionar, eae error, resultado final error, repita la prueba
	stx error, eae positivo, resultado final error, repita la prueba
	stx error, eae negativo, resultado final error, repita la prueba
	stx error, eae inspeccionar, resultado final error, repita la prueba
	stx error, eae error, resultado final error, repita la prueba

Claves del control negativo






	Válido para ambos, enlace válido
	Válido para uno, error en el otro, error de enlace, repita la prueba
	Válido para uno, el otro inválido, enlace inválido, repita la prueba
	Error en ambos, error de enlace, repita la prueba
	Ambos inválidos, enlace inválido, repita la prueba
	Error en uno, el otro inválido, error de enlace, repita la prueba

Las muestras presuntamente positivas deben confirmarse de acuerdo con los procedimientos operativos estándar del laboratorio o mediante la confirmación del método de referencia apropiado^(1, 2, 3), comenzando con la transferencia del caldo de enriquecimiento primario a las placas selectivas y la confirmación de aislados usando los métodos serológicos y bioquímicos apropiados. En el caso de las matrices especificadas por el MLG 5C, la separación inmunomagnética (IMS) debe hacerse antes de preparar las placas en un medio selectivo.

NOTA: Incluso una muestra negativa no arrojará una lectura de cero ya que los reactivos de amplificación del 3M Sistema de Detección Molecular 2 - Ensayo de Detección Genética de STEC (*stx* y *eae*) y el sistema tienen una lectura de unidades relativas de luz de fondo (RLU).

En el raro caso de que se emita una señal de luz inusual, el algoritmo lo indicará como “Inspeccionar”. 3M recomienda al usuario repetir el ensayo para aquellas muestras etiquetadas como Inspeccionar. Si el resultado sigue siendo Inspeccionar, proceda con la prueba de confirmación usando su método preferido^(1, 2, 3) o según se especifique en las regulaciones locales.

Tabla 4. Símbolos e información para diversos resultados del software.

Tipo de pozo	Símbolo del resultado del pozo	Resultado	Interpretación
Muestra		Positiva	La muestra es presuntamente positiva para el patógeno objetivo.
Muestra		Negativa	La muestra es negativa para el patógeno objetivo.
Muestra		Inhibida	La matriz de la muestra fue inhibidora para el ensayo. Es posible que se requiera una repetición de la prueba. Para obtener más información, consulte la sección de solución de problemas y las instrucciones del producto del kit de ensayo.
Muestra		Inspeccionar	No se pudo determinar la presencia o ausencia del patógeno objetivo. Es posible que se requiera una repetición de la prueba. Para obtener más información, consulte la sección de solución de problemas y las instrucciones del producto del kit de ensayo.
Muestra		Error	No se detectó bioluminiscencia. Es posible que se requiera una repetición de la prueba. Para obtener más información, consulte la sección de solución de problemas y las instrucciones del producto del kit de ensayo.

Apéndice A. Interrupción por protocolo: Almacenamiento y nuevo análisis de las muestras

1. Para almacenar un lisado tratado con calor, vuelva a tapar el tubo de Solución de Lisis 3M con una tapa limpia (consulte la sección 4.5, Lisis).
2. Para almacenar una muestra enriquecida, incube durante 18 horas como mínimo antes de almacenar.
3. Almacene entre 4 °C y 8 °C por hasta 72 horas.
4. Prepare una muestra almacenada para amplificación invirtiéndola 2 a 3 veces para mezclar.
5. Destape los tubos.
6. 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.
7. Retire la gradilla descubierta de tubos de Solución de Lisis 3M del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular 3M 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.
8. Siga el protocolo en la sección Amplificación que se detalla arriba.

Referencias:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 5C.00. Detection and isolation of top seven Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STECs) from meat products and carcass and environmental sponges. Feb 4, 2019.
2. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. October 2018.
3. ISO/TS 13136:2012: Microbiology of food and animal feed — Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens — Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good laboratory practice for nonclinical laboratory studies.
5. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
6. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
7. 3M Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for 3M Molecular Detection System. Contacte a su representante de 3M Food Safety para obtener una copia de este documento.

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

3M is a trademark of 3M.
Used under license in Canada. © 2020, 3M.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

3M est une marque de commerce de 3M.
Utilisées sous licence au Canada. © 2020, 3M. Toute utilisation non
autorisée est interdite. Tous droits réservés.
34-8725-8370-2