

Instrucciones del Producto

Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7)

Descripción del producto y uso previsto

El Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M™ se utiliza con el Sistema de Detección Molecular 3M™ para la detección específica y rápida de *E. coli* O157 (incluido H7) en muestras enriquecidas de alimentos y muestras de alimento para animales.

Los Análisis de Detección Molecular 3M usan amplificación isotérmica tipo LAMP (por sus siglas en inglés) 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, 3).

El Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M está previsto para el 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 documentó este producto para el análisis de muestras ambientales, farmacéuticas, cosméticas, clínicas o veterinarias. El Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M no ha sido evaluado con todos los productos alimenticios, procesos alimenticios, 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 Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M 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 cuenta con certificación de la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) 9001 de diseño y fabricación.

El Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M contiene 96 pruebas, que se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Componentes del kit para el Análisis de Detección Molecular 3M

Artículo	Identificación	Cantidad	Contenido	Comentarios
Solución de Lisis (LS) 3M™	Solución rosada en tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µL de Solución de Lisis de 3M por tubo	En bastidor y lista para usar
Tubos de reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para <i>E. coli</i> O157 (incluido H7) 3M™	Tubos rosa	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mezcla de detección y amplificación específica liofilizada	Listos para usar
Tapas adicionales	Tapas rosa	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
Guía de inicio rápido		1		

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

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y proceder con toda la información de seguridad incluida en las instrucciones para el Sistema de Detección Molecular 3M y el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M. 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, y/o daños materiales.

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

⚠ ADVERTENCIA

No use el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M para el diagnóstico de afecciones en seres humanos ni animales.

El usuario debe capacitar a su personal en lo que respecta a las técnicas de prueba adecuadas, por ejemplo, Buenas prácticas de laboratorio, ISO/IEC 17025⁽⁴⁾ o 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.
- Use un medio precalentado a $41,5 \pm 1$ °C. No permita que la temperatura del medio baje a menos del rango de temperatura de incubación durante la preparación de la muestra.
- Almacene el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M como se indica en el embalaje y en las instrucciones del Producto.
- Siempre use el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M antes de su fecha de vencimiento.
- Use el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M con muestras de alimentos y muestras ambientales de donde se procesan alimentos validadas internamente o por un tercero.
- Use el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M solo con superficies, desinfectantes, protocolos y cepas de bacterias que hayan sido validadas internamente o por un tercero.
- En el caso de muestras ambientales que contengan solución de caldo neutralizante (NB) con 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 solución de caldo neutralizante enriquecida a los tubos de Solución de Lisis 3M. Productos de manejo de muestras 3M™ que incluyen una Solución de Caldo Neutralizante 3M™ con el complejo aril sulfonato: BPPFV10NB, RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, XSLSSL10NB, HS10NB y HS119510NB.

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 los 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™ (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.

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:

- 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.

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.

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 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 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 Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 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 su procesamiento o presentación, por ejemplo, productos crudos frente a pasteurizados; alimentos frescos frente a 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 Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M entre 2 °C-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 cerradas a una temperatura entre 2 °C-8 °C durante 60 días como máximo.

No use el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 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 Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 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 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.

El usuario debe completar la capacitación de calificación del operador 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⁾.

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 ADN.

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

La Tabla 3 para los protocolos de enriquecimiento según el AOAC® *Official Method of Analysis*SM 2017.01

La Tabla 4 para los protocolos de enriquecimiento según el certificado NF Validation 3M 01/18-05/17

Enriquecimiento de la muestra

Las Tablas 2, 3 o 4 presentan una guía para los protocolos de enriquecimiento de 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. Caliente previamente el medio de enriquecimiento BPW ISO a 41,5 °C ± 1 °C.
2. Combine asépticamente el medio de enriquecimiento y la muestra según las Tablas 2, 3 o 4. Para todas las muestras con alto contenido de partículas y carne, se recomienda utilizar bolsas con filtro.
3. Homogenice bien todas las matrices, excepto las frutas y las verduras de hoja, mediante una licuadora, un homogeneizador peristáltico o a mano durante 2 ± 0,2 minutos. Incube a 41,5 °C ± 1 °C durante el tiempo apropiado según las Tablas 2, 3 o 4.

Tabla 2. Protocolos generales de enriquecimiento

Matriz ^(a)	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (mL)	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)
Carne de res cruda, incluso carne picada/molida y recortes	325 g	975 BPW ISO (precalentado)	41,5	10-18
Carne cruda, incluso carne de res, cerdo, ave, cordero y búfalo crudo	25 g	225 BPW ISO (precalentado)	41,5	8-18
Verduras de hoja ^(b)	200 g	450 BPW ISO (precalentado)	41,5	18-24
Otros alimentos, incluso fruta ^(b) , vegetales, jugos de frutas/vegetales, hierbas frescas, mariscos crudos, huevos crudos, leche cruda, masa de galletas y carne procesada	25 g	225 BPW ISO (precalentado)	41,5	18-24

Nueces o mezclas de frutos secos con nueces (este protocolo es apropiado para otros frutos secos tales como nueces pecanas, almendras, pistachos, castañas de cajú y castañas)	25 g	225 leche en polvo sin grasa reconstituida	41,5	18-24
--	------	---	------	-------

- (a) Las muestras congeladas se deben equilibrar a 4 °C-8 °C antes de agregarlas al caldo de enriquecimiento.
- (b) Las muestras de frutas y verduras de hoja se deben agitar suavemente a mano durante 5 minutos. No mezcle ni use un homogeneizador peristáltico.

Instrucciones específicas para métodos validados

AOAC® Official Methods of AnalysisSM 2017.01

En el programa AOAC Official Method of AnalysisSM, se determinó que el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M era un método eficaz para detectar *E. coli* O157:H7. Las matrices evaluadas en el estudio se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Protocolos de enriquecimiento que utilizan BPW ISO precalentada a 41,5 °C ± 1 °C según AOAC® Official MethodsSM 2017.01

Matriz	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (mL)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Homogeneizada
Carne molida cruda (73 % magra)	325 g	975	10-18	A mano o mediante homogeneizador peristáltico
Espinaca cruda en bolsa ^(a)	200 g	450	18-24	Agitar suavemente a mano durante 5 minutos, no homogeneizar
Coles frescas	25 g	225	18-24	Agitar suavemente a mano durante 5 minutos, no homogeneizar
Arándanos congelados ^{(a)(b)}	25 g	225	18-24	Agitar suavemente a mano durante 5 minutos, no homogeneizar

- (a) Las muestras de frutas y verduras de hoja se deben agitar suavemente a mano durante 5 minutos. No mezcle ni use un homogeneizador peristáltico.
- (b) Las muestras congeladas se deben equilibrar a 4 °C-8 °C antes de agregarlas al caldo de enriquecimiento.

NF Validation por AFNOR Certification



3M 01/18-05/17

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Para más información acerca del final 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⁽⁸⁾ comparada con la norma ISO 16654⁽³⁾

Alcance de la validación: carne de res cruda, productos lácteos crudos, frutas y vegetales crudos

Preparación de la muestra: las muestras se deben preparar según las normas EN ISO 16654 y EN ISO 6887⁽⁶⁾

Versión de Software: consulte el certificado

Tabla 4. Protocolos de enriquecimiento que utilizan BPW ISO precalentada a 41,5 °C ± 1 °C según el método certificado NF Validation 3M 01/18-05/17

Protocolo	Tamaño de la muestra	Volumen del caldo de enriquecimiento (mL)	Temperatura de enriquecimiento (± 1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)
Productos lácteos crudos, frutas y vegetales crudos	25 g	225	41,5	18-24
Carne de res cruda	25 g	225	41,5	8-24

NOTAS:

- Las muestras de más de 25 g no han sido sometidas a prueba en el estudio de NF VALIDATION.
- Los puntos de interrupción del protocolo recomendados corresponden a después del enriquecimiento o después de la lisis de las muestras. El caldo de enriquecimiento o el lisado de muestra se puede almacenar a 2 °C-8 °C por hasta 72 horas. 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**. El lisado también se puede almacenar a 20 °C.
- Los protocolos de enriquecimiento breve son sensibles a las condiciones de incubación y se debe cumplir con las temperaturas especificadas en el protocolo. Se debe verificar la temperatura en el tanque de agua o la incubadora donde se precalientan los caldos para garantizar que el caldo de enriquecimiento alcance la temperatura necesaria. El tiempo total de preparación de la muestra, incluida la demora entre el final del paso de precalentamiento del medio y el comienzo de la incubación de la muestra de alimentos, no debe superar los 45 minutos. Se recomienda utilizar una incubadora ventilada durante la incubación.

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 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-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 de Detección Molecular 3M™ e inicie sesión. Contacte a su representante de 3M Food Safety para verificar que tiene la última versión 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™.

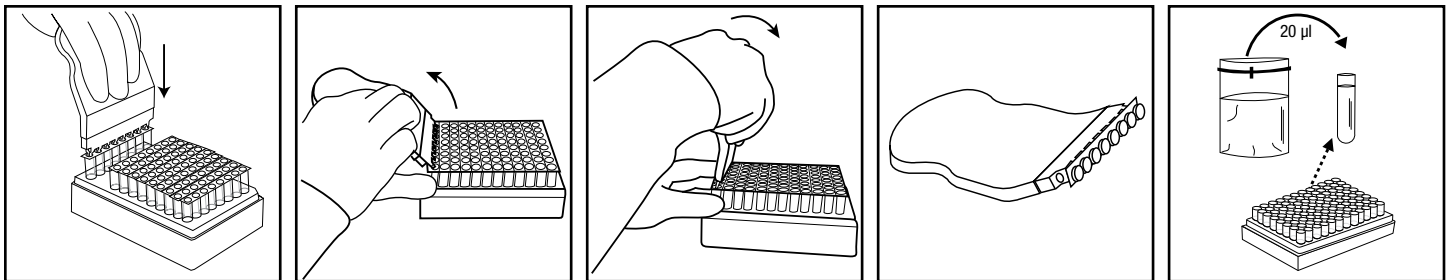
NOTA: El Equipo de Detección Molecular 3M debe alcanzar y mantener 60 °C de temperatura antes de insertar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular 3M con los tubos de reacción. Este paso de calentamiento lleva unos 20 minutos y aparece indicado por una luz NARANJA en la barra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

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 4 horas.
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 de control negativo (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 de la Solución de Lisis 3M. Seleccione la cantidad de tubos de Solución de Lisis 3M individuales o 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**.

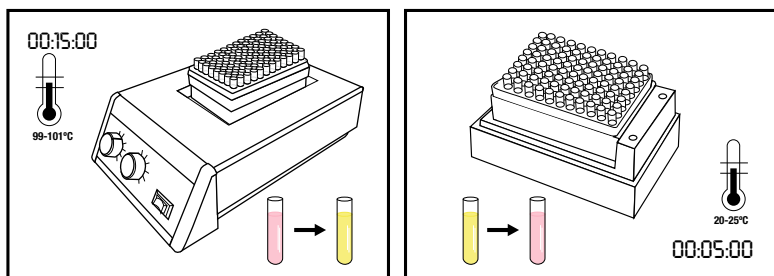
- 4.4 Utilice la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Lisis 3M™ para destapar una tira de tubos de Solución de Lisis 3M, una tira por vez.
- 4.5 Deseche la tapa del tubo de Solución de Lisis 3M; si se conservara el lisado para una repetición de prueba, coloque las tapas en un envase limpio para su reaplicación luego de la lisis.
 - 4.5.1 Para ver cómo procesar el lisado conservado, consulte el Apéndice A.
- 4.6 Transfiera 20 µl de la muestra a un tubo de Solución de Lisis 3M, a menos que se indique lo contrario en las Tablas 2, 3 y 4 del protocolo.



5. Repita el paso 4.3 hasta que cada muestra individual se haya agregado al correspondiente tubo de Solución de Lisis 3M 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 se hayan transferido todas las muestras, transfiera 20 µL del NC (medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, BPW ISO) a un tubo de Solución de Lisis 3M. 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 °C ± 1 °C.
9. 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.
10. 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 el Bloque de Enfriamiento Molecular 3M a temperatura ambiente sin la Bandeja para el Bloque de Frío del Sistema de Detección Molecular 3M, debe colocarse directamente sobre la mesa del laboratorio. Cuando esté fría, la solución de lisis se revertirá a un color rosado.

11. Retire la gradilla de tubos de Solución de Lisis 3M de la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular 3M.



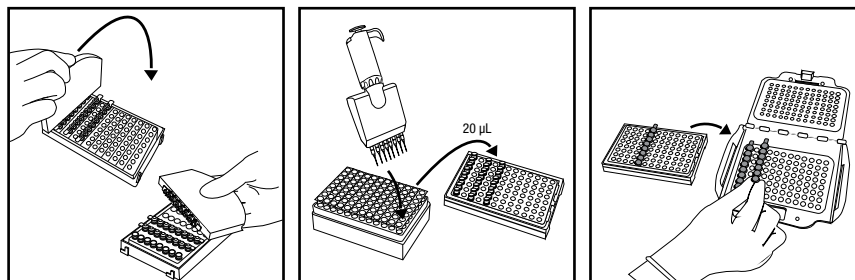
Amplificación

1. Se necesita un Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M 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 Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M o tiras de 8 tubos, según sea necesario.
 - 1.2 Coloque los Tubos de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M en una gradilla vacía.
 - 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 contaminación cruzada, destape un Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M por vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
4. Transfiera el lisado a un Tubo de Reactivo del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M 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 de Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M **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 el Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M, una tira a la vez. Deseche la tapa.
 - 5.1 **Transfiera 20 µL del lisado de muestra de la ½ superior del líquido (evite el precipitado) en el tubo de Solución de Lisis 3M que corresponde al Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M. 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 Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M en la tira.
 - 5.3 Cubra los Tubos de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M 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 Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M.
 - 5.6 **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.

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 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 ADN amplificado. Esto incluye el Control de Reactivos 3M, el Tubo de Reactivos del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M y los Tubos de Control de Matriz 3M. Siempre deseche los tubos de reactivo sellados sumergiéndolos en una solución de lejía 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.

Las muestras con resultados presuntivos positivos deben ser confirmadas 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 BPW ISO al secundario, seguido del subsiguiente sembrado en placa y la confirmación de aislados, utilizando métodos bioquímicos y serológicos apropiados.

NOTA: Incluso una muestra negativa no arrojará una lectura de cero, ya que el sistema y los reactivos de amplificación del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M tienen unidades relativas de luz de fondo (RLU).

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.

En caso de resultados discordantes (presuntamente positivos con el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M no confirmados por alguno de los medios descritos anteriormente y, en particular, la prueba de aglutinación de látex), el laboratorio debe seguir los pasos necesarios para garantizar la validez de los resultados obtenidos.

Confirmación de los resultados según el Método Certificado de NF VALIDATION

En el contexto de NF VALIDATION, todas las muestras identificadas como positivas por el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M deben ser confirmadas mediante una de las siguientes pruebas:

Opción 1: uso de la norma ISO 16654⁽³⁾ a partir del enriquecimiento de agua peptonada tamponada⁽³⁾.

Opción 2: mediante la implementación de un método de confirmación compuesto por lo siguiente: Utilice la técnica de rayado con 50 µL del enriquecimiento de agua peptonada tamponada⁽³⁾ en una placa agar MacConkey sorbitol suplementado con cefixima y telurito de potasio (CT-SMAC)⁽³⁾. Incube durante 24 ± 3 horas a 37 °C. Realice un rayado de las colonias típicas en agar de nutrientes y realice la prueba de aglutinación de látex directamente en las colonias aisladas. Si no se confirman los resultados del Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M, realice un paso de separación inmunomagnética y, luego, realice un rayado con 50 µL en CT-SMAC.

Opción 3: mediante el uso de sondas de ácido nucleico tal como se describen en la norma EN ISO 7218⁽⁵⁾, realizado sobre colonias aisladas (purificadas o no) de CT-SMAC (consulte las Opciones 1 o 2). Las sondas de ácido nucleico deben ser diferentes de las utilizadas en el Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M.

Opción 4: mediante el uso de cualquier otro método certificado NF VALIDATION, cuyo principio debe ser diferente al Análisis de Detección Molecular 2 para *E. coli* O157 (incluido H7) 3M. Se debe utilizar el protocolo completo descrito para este segundo método validado. Todos los pasos previos al comienzo de la confirmación deben ser comunes para ambos métodos.

En caso de resultados discordantes (presuntamente positivos con el método alternativo, no confirmados por alguno de los medios descritos anteriormente), el laboratorio debe seguir los pasos necesarios para garantizar la validez del resultado obtenido.

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 nuevo análisis de las muestras

1. Para almacenar un lisado tratado con calor, vuelva a tapar el tubo de lisis con una tapa limpia (consulte Lisis, sección 4.5).
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 de tubos Solución de Lisis 3M del bloque de calentamiento y deje que se enfríe en el 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. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. November 2015.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 5.09. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. Effective Date: 15 January 2015.
3. ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
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 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. Installation Qualification (IQ)/Operational Qualification (OQ) 3M™ Molecular Detection System. 3M Food Safety.

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-Shurz - 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 Health Care

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

© 2017, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8720-4565-2