Ensayo de PCR en tiempo real del sistema BAX®

Campylobacter jejuni/coli/lari

Referencia KIT2018

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 010702

CONTENIDO DEL KIT

96 tubos de PCR con tabletas (1 bolsa de 12 x 8 tiras)

96 tapas ópticas planas (12 x 8 tiras)

1 botella de proteasa (400 µL)

2 frascos de tampón de lisis (12 mL)

USO PREVISTO

Las empresas procesadoras de alimentos y los laboratorios asociados pueden utilizar el sistema BAX® como un método rápido y confiable para detectar *Campylobacter* en una variedad de alimentos. Este ensayo de PCR en tiempo real fue diseñado para reportar resultados de «sí» o «no», junto con valores cuantitativos* para tres especies: *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari* en concentraciones tan bajas como10⁴UFC/mL, con o sin enriquecimiento. Con un tiempo de procesamiento de aproximadamente 70 minutos en el instrumento BAX System Q7, el método ofrece resultados comparables a los de los métodos de cultivo, pero con un tiempo de obtención de resultados significativamente más rápido.

Los sistemas BAX están diseñados para ser utilizados por personal de laboratorio calificado que siga las prácticas estándar de los laboratorios de microbiología, incluyendo el manejo y la eliminación seguros de materiales potencialmente patógenos.

**AOAC-RI ha otorgado la certificación PTM a este ensayo únicamente para resultados cualitativos en muestras enriquecidas.*

Ámbito de uso: Los datos obtenidos del sistema BAX no deben utilizarse con fines de diagnóstico o tratamiento en humanos. El equipo no está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) ni por ninguna otra agencia reguladora, ya sea de los Estados Unidos o de otros países, para su uso en el diagnóstico o tratamiento de seres humanos. El sistema BAX no debe utilizarse como única base para evaluar la seguridad de los productos destinados a los consumidores. La información generada solo debe utilizarse junto con el programa habitual de aseguramiento de la calidad del usuario. No está aprobado para el diagnóstico clínico. Úsese para investigación y desarrollo, aseguramiento de la calidad y control de calidad bajo la supervisión de personas técnicamente calificadas.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Consulte la Guía del usuario del sistema BAX para obtener una descripción general de cómo el método del sistema BAX utiliza la tecnología automatizada de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real.

MATERIALES

Ensayo de PCR en tiempo real del sistema BAX para *Campylobacter jejuni/coli/lari* (ref. KIT2018)

Paquete de puesta en marcha del sistema BAX (equipo y suministros para hasta 192 pruebas)

- Ciclador/detector Q7 del sistema BAX y estación de trabajo de computadora
- Bloques calefactores con insertos* capaces de mantener 37 ± 2 ºC y 95 ± 3 ºC
- Bloques de enfriamiento con insertos*
- Soporte para tubos de PCR
- Herramientas para tapar y destapar
- Pipetas mecánicas ajustables (5–50 µL; 20–200 µL)
- Pipeta repetitiva
- Pipeta multicanal (8 canales — 5–50 µL)
- *Tubos agrupados con tapas y soportes
- *Puntas de pipeta con barreras**
- *Guantes de nitrilo sin polvo

* *El bloque térmico automatizado (n.º de catálogo MCH2023) puede utilizarse en lugar de los bloques de calentamiento y enfriamiento.*

** *Se recomiendan puntas con filtro.*

Stomacher con bolsas

Incubadora capaz de mantener temperaturas de enriquecimiento dirigidas con una precisión de ± 2 °C

Aparato para la inyección de gases microaeróbicos (5 % de O_2, 10 % de CO_2, 85 % de N_2)

Medios de enriquecimiento (consulte la Guía del usuario del sistema BAX para obtener detalles)

ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL

- Los paquetes de reactivos deben mantenerse refrigerados a 2–8 °C. No congelar.
- Los reactivos deben utilizarse antes de la fecha de vencimiento impresa en las etiquetas individuales.
- Una vez que se ha agregado la proteasa al tampón de lisis, la vida útil de la solución es de 2 semanas cuando se almacena a 2–8 °C.

PRECAUCIONES

El método del Sistema BAX incluye procedimientos de enriquecimiento de muestras que favorecen el crecimiento de posibles patógenos hasta niveles detectables. Dado que los patógenos pueden causar enfermedades en los seres humanos, se deben tomar las precauciones de seguridad adecuadas al manipular muestras, medios, reactivos, cristalería y otros suministros y equipos que puedan estar contaminados con bacterias potencialmente patógenas.

Los reactivos utilizados en los ensayos del sistema BAX no deberían presentar riesgos cuando se utilizan según las instrucciones. Antes de utilizar este producto, revise las hojas de datos de seguridad (SDS) incluidas con tu compra del sistema BAX y también disponible en www.hygiena.com. Consulta las prácticas de tu sitio para el manejo seguro de los materiales a temperaturas extremas.

REQUISITOS DE SOFTWARE

Antes de utilizar este ensayo por primera vez, instale la versión más reciente del software del sistema BAX y, a continuación, genere un informe de calibración para verificar que «Real Time Campylobacter» aparezca en la lista de archivos de calibración. Consulte la sección «Solución de problemas de calibración» en la Guía del usuario del sistema BAX para obtener más detalles.

Si la lista del informe no contiene «Real Time *Campylobacter*», debe recalibrar el instrumento Q7 para cargar los colorantes necesarios. Asegúrese de dejar tiempo suficiente para completar la calibración (aproximadamente de 1,5 a 2 horas) antes de iniciar el ensayo. Para obtener instrucciones y consejos sobre cómo calibrar el instrumento, consulte la Guía del usuario del sistema BAX .

PROTOCOLO DE ENRIQUECIMIENTO

1. Preparación del caldo de enriquecimiento

Prepare el caldo de enriquecimiento de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Consulte la Guía del usuario del sistema BAX para ver recetas comunes de medios de enriquecimiento.

2. Recolección y enriquecimiento de muestras Método aprobado por la AOAC

- *Enjuagues de canales de aves de corral:* Homogeneice la muestra en una proporción de 1:1 con caldo de Bolton de doble concentración precalentado (42 °C) con suplemento (sin sangre). El volumen preparado debe ser suficiente para dejar un espacio libre de menos de 2,5 mm desde la parte superior de un tubo hermético u otro recipiente hermético. Incube a 42 °C durante 24 a 48 horas.
- *Pavo procesado:* Homogeneizar una muestra de 25 g con 225 mL de caldo de Bolton de concentración simple, precalentado a 42 °C y con suplemento (sin sangre). Incubar en condiciones microaerfílicas* a 42 °C durante 24 a 48 horas.

* ***Nota**: Las bacterias del género Campylobacter son microaerofílicas y, por lo tanto, susceptibles a factores de estrés ambientales, como la exposición al aire, la desecación, un pH bajo y el almacenamiento prolongado. La preparación de la muestra suele requerir una etapa de gaseado (5 % de O_2, 10 % de CO_2, 85 % de N_2) y la incubación en condiciones microaerofílica .*

PROTOCOLO DIRECTO (SIN ENRIQUECIMIENTO)

Se espera que algunos tipos de muestras, como los enjuagues de canales de pollo, contengan altas concentraciones de *Campylobacter*. Cuando la detección de niveles bajos no es un problema, se puede omitir la etapa de enriquecimiento.

PROTOCOLO DE PRUEBA

3. Preparación del equipo

3.1 Encienda los bloques calefactores a 37 ºC y 95 ºC*.

3.2 Asegúrese de que los bloques de enfriamiento estén enfriados a 2-8 ºC*.

* *Si utiliza el bloque térmico automatizado, siga las instrucciones de la Guía del usuario del bloque térmico para ejecutar el programa para bacterias Gram-negativas.*

3.3 Encienda el instrumento Q7 e inicie la aplicación BAX System.

3.4 Crea un archivo de rack (consulta la Guía del usuario para obtener más detalles).

4. Realice la lisis

4.1 Separe los tubos agrupados.

4.2 Etiquete y coloque los tubos agrupados en el rack de acuerdo con el archivo de rack.

4.3 Prepare el reactivo de lisis agregando 150 µL de proteasa a una botella de 12 mL de tampón de lisis.

4.4 Transfiera 200 µL de reactivo de lisis a cada tubo de grupo.

4.5 Transfiera 5 µL de muestra enriquecida al tubo de grupo correspondiente.

4.6 Calentar a 37 °C durante 20 minutos.

4.7 Calentar a 95 °C durante 10 minutos.

4.8 Enfríe a 2–8 °C durante al menos 5 minutos.

5. Hidratar las tabletas de PCR

5.1 Inicialice el instrumento seleccionando EJECUTAR PROCESO COMPLETO en el menú OPERACIÓN.

5.2 Coloca un portatubos de PCR sobre un bloque de enfriamiento de PCR refrigerado (2–8 °C).

5.3 Organice las tiras de tubos de PCR según su archivo de portatubos.

5.4 Retire las tapas de la primera tira de tubos con la herramienta para destapar.

5.5 Transfiera 30 µL de lisado (del paso 4.8) a los tubos de PCR y, a continuación, ciérrelos con tapas ópticas planas.

5.6 Repita el proceso con las tiras restantes de tubos de PCR hasta que se hayan hidratado todas las tabletas de PCR.

6. Amplificar y detectar

6.1 Cuando aparezca el mensaje «Listo para cargar el rack», haz clic en el botón SIGUIENTE y abre el cajón del instrumento.

6.2 Coloca la bandeja de tubos de PCR sobre los pozos del cajón y verifica que los tubos estén bien colocados.

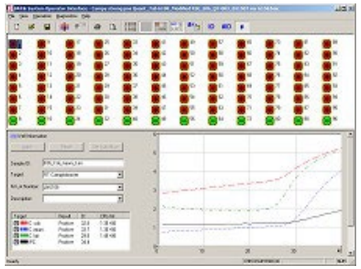
6.3 Cierre el cajón y haga clic en el botón «SIGUIENTE» para iniciar el procesamiento automatizado.

7. Revisar los resultados

Los resultados cualitativos se muestran como una cuadrícula de íconos codificados por colores en la mitad superior de la pantalla:

Los instrumentos del sistema BAX®Q7 se comercializan bajo un acuerdo de licencia con Applied Biosystems para pruebas de alimentos. Úselos para investigación y desarrollo, así como para pruebas de aseguramiento y control de calidad, bajo la supervisión de personas técnicamente calificadas. No están aprobados para uso clínico. Lea las limitaciones de garantía y responsabilidad antes de usarlos. INS2015 REV05 ES

Fecha de vigencia: 1 de abril de 2024



Verde (-)	=	Negativo para el organismo objetivo
Rojo (+)	=	Positivo para el organismo objetivo
Amarillo (?)	=	Resultado indeterminado*
Amarillo (?) con una barra roja	=	Error de señal*

* Consulte la sección de resolución de problemas en la Guía del usuario para obtener ayuda.

Los resultados cuantitativos se muestran en la mitad inferior de la pantalla al hacer clic en un pozo:

Target	Result	Ct	CFU/ml
C. coli	Positive	32.8	1.3E+06
C. jejuni	Positive	33.7	1.3E+06
C. lari	Positive	29.8	1.4E+06
IPC	Positive	34.4	

- Para cada objetivo diferenciado, se reportan los resultados positivos o negativos, junto con el número de ciclo en el que la señal fluorescente alcanzó el umbral de detección (Ct).
- La última columna proporciona un valor de la concentración celular que estaba presente en la muestra antes de la lisis. Para muestras no enriquecidas, este valor es una buena medida de los niveles de contaminación brutos; de lo contrario, este valor refleja el nivel de concentración después del enriquecimiento.

CONFIRMACIÓN

Método aprobado por la AOAC

Si se desea, los resultados del sistema BAX pueden confirmarse mediante el método de cultivo de referencia adecuado para el tipo de muestra, como, por ejemplo:

- Manual de Análisis Bacteriológico (BAM) de la FDA de EE. UU.
- Guía de Laboratorio de Microbiología (MLG) del FSIS del USDA
- Compendio de métodos analíticos de Health Canada
- Organización Internacional de Normalización (ISO)

ELIMINACIÓN

Descontamine los materiales y elimine los desechos biopeligrosos de acuerdo con las prácticas de su centro y según lo exijan las regulaciones federales, ( ), estatales y locales.

VALIDACIÓN

El ensayo de PCR en tiempo real del Sistema BAX para *Campylobacter jejuni/coli/lari* ha sido certificado por el Instituto de Investigación de la AOAC como Método de Prueba de Desempeño (SM) n.º 040702. El desempeño de este kit de prueba fue revisado por el AOAC-RI y se determinó que cumple con las especificaciones del fabricante. Los estudios de validación en alimentos enriquecidos demostraron que la sensibilidad y la especificidad del Sistema BAX son iguales o superiores a las de los métodos de referencia e es basados en cultivos.

ASISTENCIA TÉCNICA

Si tiene preguntas o comentarios, comuníquese con su distribuidor local. También puede llamar al 800-863-6842 en EE. UU., al 1-302-695-5300 fuera de EE. UU., o enviar un correo electrónico adiagnostics.support@hygiena.com
www.hygiena.com/support

LIMITACIÓN DE GARANTÍA Y RESPONSABILIDAD

AVISO: LEA ESTA LIMITACIÓN DE GARANTÍA Y RESPONSABILIDAD ANTES DE UTILIZAR EL EQUIPO, LOS ENSAYOS Y/O LOS MEDIOS DEL SISTEMA BAX® («SISTEMA BAX® SISTEMA»). Si no acepta estos términos, notifique a Hygiena® de inmediato y se tomarán las medidas necesarias para la devolución a Hygiena del equipo, los ensayos y/o los medios sin usar, así como para el reembolso del precio de compra, menos los gastos de envío. EL USO DEL EQUIPO, LOS ENSAYOS Y/O LOS MEDIOS DEL SISTEMA BAX® CONSTITUYE LA ACEPTACIÓN DE TODOS LOS TÉRMINOS Y CONDICIONES DE

ESTA LIMITACIÓN DE GARANTÍA Y RESPONSABILIDAD. Cualquier término adicional o diferente que figure en los formularios de compra del Comprador constituye una modificación sustancial y, por la presente, queda rechazado.

1. El equipo del sistema BAX® solo debe utilizarse con los ensayos del sistema BAX®.

2. Cuando se utilice con los ensayos del sistema BAX®, se garantiza que el equipo del sistema BAX® estará libre de defectos de materiales, mano de obra y diseño que puedan surgir bajo un uso normal y adecuado durante los doce (12) meses a partir de la fecha de instalación para el primer usuario final. Se garantiza que los ensayos del sistema BAX® se ajustan a la descripción del ensayo bajo las condiciones de uso especificadas en la documentación del usuario hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta. Se garantiza que los medios del sistema BAX® cumplen con las especificaciones estándar vigentes en la fecha de envío. HYGIENA NO OFRECE NINGUNA OTRA GARANTÍA, YA SEA EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUIDAS, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA CONTRA LA INFRACCIÓN, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIABILIDAD O DE IDONEIDAD PARA UN PROPÓSITO PARTICULAR, O AQUELLAS QUE SURJAN DE LA LEY, LOS ESTATUTOS, LOS USOS COMERCIALES O LA PRÁCTICA COMERCIAL. El usuario asume todos los riesgos y responsabilidades que surjan del uso del equipo del sistema BAX®, los ensayos y los medios, ya sea que se utilicen por separado o en combinación con otros productos.

3. Software BAX®: Hygiena garantiza que, durante un período de 60 días a partir de la fecha de primer uso por parte del cliente o usuario final, los soportes del software BAX® estarán libres de defectos de materiales y mano de obra, y que el software BAX® funcionará sustancialmente de acuerdo con la documentación adjunta del software BAX®. EXCEPTO POR LA GARANTÍA EXPRESA ANTERIOR, HYGIENA NO OFRECE NINGUNA OTRA GARANTÍA, YA SEAN EXPRESAS O IMPLÍCITAS, INCLUIDAS, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA CONTRA LA INFRACCIÓN, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIABILIDAD O DE IDONEIDAD PARA UN PROPÓSITO PARTICULAR, O AQUELLAS QUE SURJAN DE LA LEY, LOS ESTATUTOS, USOS COMERCIALES O PRÁCTICAS COMERCIALES. El usuario asume todos los riesgos y responsabilidades derivados del uso del software BAX®, ya sea que se utilice de manera independiente o en combinación con otros productos.

4. La precisión del sistema BAX® puede verse afectada por factores que escapan al control de Hygiena, entre los que se incluyen, sin limitarse a ellos, el uso del equipo, los ensayos y/o los medios de cultivo de manera contraria a las condiciones de uso, los procedimientos o las instrucciones especificadas por Hygiena. Debido a la gran cantidad de factores que escapan al control de Hygiena, esta no ofrece ninguna promesa ni garantía respecto a la precisión del sistema BAX® ni a los resultados obtenidos con su uso. En particular, Hygiena se exime de cualquier garantía o responsabilidad y no asume responsabilidad alguna por la falla del sistema BAX® debida, en su totalidad o en parte, a que el usuario no haya: (a) mantenido adecuadamente el equipo, (b) mantenido las condiciones de operación o almacenamiento especificadas, (c) seguido las instrucciones especificadas, o (d) utilizar las técnicas microbiológicas adecuadas, de acuerdo con los estándares de cuidado aceptados en la industria para la recolección, el almacenamiento, la manipulación y la preparación correctas de la muestra.

5. Las fallas causadas por factores externos, tales como la preparación inadecuada de la muestra, el almacenamiento o la carga incorrectos de los reactivos, las interrupciones eléctricas o las condiciones ambientales fuera de las especificaciones, no están cubiertas por esta garantía. Las fallas del equipo causadas por derrames, abuso, uso indebido, negligencia u operación incorrecta tampoco están cubiertas por esta garantía. Las modificaciones, el servicio o las reparaciones realizadas por terceros que no sean proveedores autorizados por Hygiena no están cubiertas por esta garantía y, de hecho, anulan esta garantía. Las circunstancias fuera del control razonable de Hygiena, incluyendo incendios, explosiones, accidentes, inundaciones, problemas laborales o escasez de mano de obra, guerra, actos de cualquier gobierno o autorizados por este, la imposibilidad de obtener materiales, equipos, combustible, energía o transporte adecuados, o casos de fuerza mayor, no están cubiertas por esta garantía.

6. El sistema BAX® está diseñado para detectar únicamente la presencia de los organismos objetivo especificados en el ensayo en cuestión. El sistema BAX® ha sido probado contra muchas, pero no todas, las cepas del organismo objetivo dentro de los tipos de muestras especificados en la documentación del usuario. Por lo tanto, Hygiena no puede ofrecer ni ofrece ninguna garantía de que el sistema BAX® sea capaz de detectar todos los organismos del género, la especie o el serotipo objetivo en cualquier fuente de muestra. En consecuencia, el sistema BAX® no debe utilizarse como la única prueba para la liberación de los productos del usuario, ni debe servir como única base para determinar la seguridad de dichos productos.

7. EL CLIENTE/USUARIO ASUME TODOS LOS RIESGOS DERIVADOS DEL USO DEL SISTEMA BAX® Y NI HYGIENA NI SUS AFILIADAS, DISTRIBUIDORES, LICENCIANTES O REPRESENTANTES TENDRÁN RESPONSABILIDAD ALGUNA ANTE EL CLIENTE/USUARIO NI ANTE NINGUNA OTRA PERSONA O ENTIDAD POR CUALQUIER DAÑO INDIRECTO, INCIDENTAL, ESPECIAL, PUNITIVO, EJEMPLAR O CONSECUENCIAL DE CUALQUIER TIPO, INCLUIDOS, entre otros, la pérdida de ingresos o ganancias, la pérdida o daño de datos u otras pérdidas comerciales o económicas, incluso si son causadas por la negligencia de HYGIENA o de sus representantes y/o si se ha advertido a HYGIENA de la posibilidad de tales daños, y/o si estos son previsibles.

8. EL ÚNICO Y EXCLUSIVO RECURSO DEL CLIENTE/USUARIO, Y LA ÚNICA Y EXCLUSIVA RESPONSABILIDAD DE HYGIENA, SUS AFILIADOS, DISTRIBUIDORES, LICENCIANTES O REPRESENTANTES POR CUALQUIER Y TODA RECLAMACIÓN, INCLUYENDO INCUMPLIMIENTO DE GARANTÍA, RESPONSABILIDAD EXTRACONTRACTUAL, RESPONSABILIDAD OBJETIVA, NEGLIGENCIA O DE OTRO TIPO, SE LIMITARÁ A LO
SIGUIENTE: (a) En caso de que el Equipo no cumpla con la garantía del Párrafo 2, Hygiena, a su discreción: reparará o reemplazará el Equipo no conforme por uno nuevo o reacondicionado (reparado o reconstruido) funcionalmente equivalente, o reembolsará el precio de compra; (b) En caso de que el Software BAX® no cumpla con la garantía del Párrafo 3, Hygiena lo reemplazará sin costo alguno; (c) Para todas las demás reclamaciones, Hygiena podrá, a su elección, reembolsar el precio de compra o reemplazar el equipo, los ensayos o los medios; (d) En todos los casos, el usuario es responsable del reempaque y la devolución del equipo no conforme, así como de la reinstalación del equipo nuevo o reacondicionado; y (e) El equipo, los ensayos o los medios no se devolverán sin el permiso previo por escrito de Hygiena, y, en tal caso, únicamente de la manera prescrita por Hygiena. La responsabilidad máxima de Hygiena, sus filiales, distribuidores y licenciantes, ya sea por negligencia o no, no excederá en total el monto equivalente a: (a) el precio de compra del sistema BAX®, el ensayo o el medio por el que se reclaman daños y perjuicios, o (b) en el caso del software BAX®, el monto pagado por el software (si se licenció por separado) o veinticinco mil dólares (25 000,00 USD).
El cliente o usuario deberá notificar a Hygiena cualquier reclamación en un plazo de treinta (30) días a partir de la fecha en que se produzca
y deberá iniciar cualquier acción legal contra Hygiena dentro del plazo de un (1) año a partir de la causa de la acción; de lo contrario, quedará excluido de cualquier recurso. Hygiena no será responsable de los costos, pérdidas o responsabilidades que surjan de la operación comercial del cliente/usuario, y el cliente/usuario se compromete a indemnizar, defender y eximir a Hygiena y a sus representantes de dichos costos, pérdidas o responsabilidades.

AVISO AL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA DEL PROCESO DE LA NUCLEASA DE 5'

Este producto es un kit de aplicación de nucleasa de 5' bajo licencia. Su precio de compra incluye una exención limitada e intransferible de demandas en virtud de las patentes estadounidenses n.º 5,210,015, 5,487,972, 5,804,375, 5,079,352 y 6,127,155, así como de las reivindicaciones de patentes fuera de Estados Unidos, propiedad de Roche Molecular Systems, Inc. o F. Hoffmann-La Roche Ltd (Roche), y en virtud de las patentes estadounidenses n.º 5,538,848, 5,723,591, 5,876,930, 6,030,787 y 6,258,569, y las reivindicaciones de patentes fuera de Estados Unidos, propiedad de Applied Biosystems, para utilizar únicamente esta cantidad del producto en la aplicación del proceso de nucleasa 5' exclusivamente para el análisis de alimentos. Por la presente no se otorga, ni de manera expresa, ni implícita, ni por preclusión, ningún derecho en virtud de ninguna otra reivindicación de patente (como reivindicaciones de aparatos o sistemas), ni ningún derecho a utilizar este producto para ningún otro fin. Para obtener más información sobre la adquisición de licencias, comuníquese con el Director de Licencias de Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, EE. UU.