

PrioCHECK™ Trichinella AAD Kit

Método de digestión artificial para ayuda de detección *in vitro* de larvas de *Trichinella* spp. en muestras de carne

Número de Catálogo 7620040

N.º de Pub. MAN0015724 Rev. A.0

¡**IMPORTANTE!** En Argentina, siga el Apéndice A, "Pautas para la sedimentación de muestras congeladas aplicables a Argentina".



¡**ADVERTENCIA!** Lea las hojas de datos de seguridad (SDS) y siga las instrucciones de manipulación. Lleve el equipo de protección individual (EPI) adecuado (gafas, ropa, guantes). Las hojas de datos de seguridad (SDS) se encuentran disponibles en thermofisher.com/support.



¡**ADVERTENCIA! POSIBLE RIESGO BIOLÓGICO.** Lea la información sobre seguridad frente a los riesgos biológicos en la página de este producto en thermofisher.com. Lleve el equipo de protección individual (EPI) adecuado (gafas, ropa, y guantes)

Introducción

La triquinosis provocada por el nematodo *Trichinella* es una enfermedad zoonótica que aparece en todo el mundo y afecta a una gran variedad de especies diferentes incluyendo mamíferos, pájaros y reptiles. En la actualidad se conocen 12 taxones diferentes dentro de este género. Las especies de mayor importancia en Europa son *Trichinella spiralis*, *Trichinella britovi*, *Trichinella pseudospiralis* y *Trichinella nativa*. La *Trichinella spiralis* se encuentra en animales de producción (cerdos, caballos) en zonas cálidas y además se puede encontrar en animales que estén en contacto directo con estos animales de producción (p. ej. perros, gatos, ratas). La *Trichinella britovi* se encuentra principalmente en animales silvestres. La *Trichinella pseudospiralis* se distribuye por todo el mundo y se encuentra además en pájaros. Las infecciones por *Trichinella* en cerdos tienen su importancia porque los seres humanos pueden comer carne cruda o mal cocinada.

Este método de digestión artificial es el procedimiento que se recomienda actualmente para la detección de larvas de *Trichinella* en la carne. Según la directiva CE 2015/1375, debe revisarse cada animal individual utilizado para consumo humano para determinar la presencia de larvas de *Trichinella* spp. Por eso se combina la carne de los animales individuales y mediante digestión artificial se revisa para determinar la presencia de larvas de *Trichinella*.

Applied Biosystems™ PrioCHECK™ Trichinella AAD Kit es un nuevo método de digestión artificial alternativo. Es un método fiable y rápido para ayudar a la detección de larvas de *Trichinella* en carne y puede utilizarse para preparar muestras de carcasas individuales.

Principio

Se forman pools de carne de hasta 115 g (por ejemplo, diafragma) a partir de partes individuales. Se añade un tampón de digestión y una solución de enzimas a los trozos de carne y se digieren a 60°C. Después de la posterior sedimentación y los pasos de lavado, se analiza la solución para determinar la presencia de larvas bajo un triquinoscopio o un estereomicroscopio (15–20 aumentos).

PrioCHECK™ Trichinella AAD Kit utiliza una serina endopeptidasa del grupo de enzimas subtilisina. En la digestión no se utiliza ácido hidrocórico, lo que lo convierte en un método más práctico que el método de digestión artificial tradicional.

Componentes

Kit para 4,000 ensayos / hasta 400,000 animales individuales. Guardar el kit a 0–25°C hasta su fecha de caducidad. Consulte la etiqueta del kit para ver la fecha de caducidad real. La vida útil de los componentes diluidos, abiertos o reconstituidos aparece a continuación, cuando corresponda.

Componente	Descripción
1: Tampón de digestión (20x)	Ochenta (80) botellas que contienen 5 L de tampón de digestión. Agitar suavemente antes de usar.
2: Solución de enzimas	Lista para usar. Cuarenta (40) botellas que contienen 5 L de solución de enzimas.
3: Aditivo de tampón de digestión	Lista para usar. Cinco (5) botellas que contienen 1 L de aditivo de tampón de digestión.
Contenido adicional del kit	Instrucciones de uso

Material necesario adicional

A menos que se indique lo contrario, todos los materiales están disponibles en thermofisher.com.

Uso	Descripción
General	Equipo de laboratorio según las normas de seguridad nacionales. <ul style="list-style-type: none"> • Agua • Probeta calibrada • Vaso de precipitados de cristal, 3 litros • Pipeta • Termómetro de precisión de 0.5°C, en el rango entre 1°C y 100°C • Malla de acero inoxidable, tamaño de malla 180 micrómetros
Material especial	<ul style="list-style-type: none"> • Embudo de separación, estilo Squibb; Pírex; Capacidad 2000–3000 mL; Llave de paso N.º 6; Tapón cónico estándar N.º 38; Con tapón de polietileno y llave PTFE, p.ej. Fisher Scientific, N.º Catálogo 10-437-5F • Probeta de cristal o tubo de ensayo de cristal, capacidad 80 mL, diámetro × longitud: 40 × 115 mm
Preparación de muestras	<ul style="list-style-type: none"> • Mezclador
Análisis de los resultados	<ul style="list-style-type: none"> • Estereomicroscopio con un aumento de entre 15 y 20 veces o triquinoscopio • Placa Petri con cuadrícula

Protocolo

Precauciones

- Se deben seguir estrictamente las normas nacionales de seguridad.
- PrioCHECK™ Trichinella AAD Kit debe usarse en laboratorios adecuados para este propósito.
- Las muestras deben ser consideradas como potencialmente infecciosas y todos los objetos que entren en contacto con las muestras como potencialmente contaminados.

Notas

Para lograr unos resultados óptimos con PrioCHECK™ Trichinella AAD Kit, debe tener en cuenta los siguientes aspectos:

- **Hay que seguir estrictamente el protocolo.**
- No deben utilizarse juntos componentes de kits con números de lote diferentes.
- La solución de digestión debe estar a una temperatura de 60±2°C durante el procedimiento.

Preparación de muestras

Utilice un cuchillo o tijeras y pinzas para cortar las muestras.

Pasos previos

1. Corte las muestras con un cuchillo o tijeras.
2. Combine las muestras, máximo 115 g por pool de tejido.

Por ejemplo, para cerdo: se analizaron hasta 115 piezas de muestras de 1 g de diafragma. Revise el Reglamento EC 2015/1375 oficial para obtener más detalles sobre cada especie.

Nota: Se recomiendan entre 100 y 115 g de tejido por combinación. Si se utiliza menos de 100 g de tejido, los volúmenes de la solución de trabajo de digestión tamponada, la solución de enzimas y los volúmenes de enjuague deben adaptarse de forma correspondiente. No utilice menos de 10 g de tejido.

Digestión artificial

1. Prepare 2 L de tampón de digestión 1x (100±5 mL tampón de digestión (20x) + 1900 mL de agua) en el recipiente de digestión (p. ej. vaso de precipitados).
Nota: En el paso 4, se debe precalentar el agua (60±2°C) para reducir el tiempo de calentamiento.
2. Añada 0.5–1 mL de aditivo de tampón de digestión.
3. Añada 50±2 mL de solución de enzimas.
4. Caliéntelo a una temperatura de 60±2°C.
5. Triture cuidadosamente el tejido de carne en una batidora, después transfiera el tejido triturado a la solución de digestión preparada precalentada. Para asegurar la completa transferencia del tejido triturado, aclare la batidora con la solución de digestión preparada.
Nota: Aclare la batidora con agua antes de triturar otra muestra de sangre.
6. Incube durante 20±2 minutos a 60±2°C en condiciones de agitación vigorosa (≥750 rpm). Aíse el recipiente de digestión para evitar que pierda calor, por ejemplo con papel de aluminio.
Nota: Durante la agitación, el líquido de digestión debe girar a una velocidad lo bastante alta como para crear un remolino profundo sin salpicar. Asegúrese de agitar lo suficiente para mantener el tejido de carne en suspensión. Esto evitará que se realice una digestión incompleta.
7. Vierta el líquido de digestión en el embudo de separación a través de la malla de acero inoxidable (ver especificaciones en la sección "Material necesario adicional").
8. Enjuague cuidadosamente el vaso de precipitados con agua (volumen máximo de 300 mL). Vierta el agua en el embudo de separación a través de la malla de acero inoxidable.
9. Lave bien la malla de acero inoxidable con agua mediante una botella comprimible.
Nota: La digestión se considera satisfactoria cuando no queda más de un 5% del peso de la muestra de inicio en el tamiz.
10. Compruebe que el embudo de separación esté nivelado verticalmente.
11. Deje que el líquido de digestión repose durante 30±2 minutos en el embudo de separación para que sedimente.
Nota: En Argentina, el tiempo de sedimentación para muestras previamente congeladas puede variar de acuerdo con el Apéndice A, "Pautas para la sedimentación de muestras congeladas aplicables a Argentina".
12. Después de la sedimentación, pase rápidamente 75 mL de líquido de digestión a la probeta (ver especificaciones en la sección "Material necesario adicional").
13. Deje que repose la suspensión en el cilindro durante 10±1 minutos para que sedimente.
14. Retire 65 mL de sobrenadante aspirando con cuidado la capa superior. Deje un volumen de no más de 10 mL en la probeta de cristal o en el tubo de ensayo de cristal.

Detección

1. Vierta los 10 mL de sobrenadante restante en una cubeta para el cómputo de larvas o en una placa de Petri. Enjuague el cilindro de vidrio o el tubo de ensayo de vidrio con no más de 10 mL de agua, después añada el aclarado a la muestra en una cubeta para el cómputo de larvas o en una placa de Petri.
2. Posteriormente, examine la muestra por el triquinoscopio o el estereomicroscopio con un aumento de entre 15 y 20 veces.
Nota: En caso de observar una zona sospechosa o una forma similar a un parásito, deberá utilizar un aumento mayor, de 60 a 100 veces.
Nota: Las larvas recuperadas mueren durante la digestión artificial. El ADN de las larvas aisladas queda intacto, por lo que se puede determinar la especie o genotipo mediante técnicas estándar.
Después de recoger los parásitos, no hace falta descontaminar los líquidos positivos (jugo digestivo, líquido sobrenadante, lavados, etc.) con calor, ya que las larvas mueren durante la digestión a 60±2°C.

Interpretación de los resultados

- Si no se hallan larvas durante el examen bajo el triquinoscopio o estereomicroscopio, la muestra se considera negativa.
- Si se hallan larvas durante el examen bajo triquinoscopio o estereomicroscopio, la muestra se considera positiva.

Nota: Si los reglamentos nacionales aplicables lo requieren, envíe las muestras de las larvas detectadas al Laboratorio de Referencia Nacional para la identificación de *Trichinella* a nivel de especies. Si se permite realizar más investigaciones bajo los reglamentos aplicables, se recomienda la identificación de las especies de larvas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Apéndice A – Pautas para la sedimentación de muestras congeladas aplicables a Argentina

El SENASA de Argentina requiere las siguientes instrucciones:

Para las muestras previamente congeladas, deje que el líquido de digestión repose durante 30-60 minutos en el embudo de separación.

Asistencia al cliente y soporte técnico

Asistencia técnica: visite thermofisher.com/askaquestion

Visite thermofisher.com/support para conocer lo último en servicios y asistencia, incluyendo lo siguiente:

- Números de teléfono de contacto de todo el mundo
- Pedidos y soporte web
- Guías de usuario, manuales y protocolos
- Certificados de análisis
- Fichas técnicas de seguridad (Safety Data Sheets, SDS; también conocidas como MSDS)

NOTA: Para conocer las SDS de los reactivos y productos químicos de otros fabricantes, póngase en contacto con el fabricante.

Garantía limitada del producto

Life Technologies Corporation y/o su(s) filial(es) garantizan sus productos tal y como se establece en los términos y condiciones generales de venta de Life Technologies, que se pueden encontrar en el sitio web de Life Technologies www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions. Si tiene alguna duda, póngase en contacto con Life Technologies en thermofisher.com/support.



Prionics Lelystad B.V. | Platinastraat 33 | 8211 AR Lelystad | The Netherlands

La información incluida en esta guía está sujeta a cambios sin previo aviso.

EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD: EN LA MEDIDA DE LO ESTIPULADO POR LA LEY, LIFE TECHNOLOGIES Y/O SUS AFILIADOS NO SE HACEN RESPONSABLES POR DAÑOS ESPECIALES, INCIDENTALES, INDIRECTOS, PUNITIVOS, MÚLTIPLES O CONSIGUENTES EN RELACIÓN CON O DERIVADOS DE ESTE DOCUMENTO, INCLUYENDO EL USO DEL MISMO.

Historial de revisiones: N.º de Pub. MAN0015724 (Español)

Rev.	Fecha	Descripción
A.0	02 octubre 2018	<ul style="list-style-type: none">• Documento nuevo. Se ha convertido el documento anterior (Trich_AAD_Pl_7620040_v1.2_es_20180921.doc) a la plantilla del documento actual, con actualizaciones asociadas a la información sobre la licencia limitada, la garantía, las marcas comerciales y logotipos.• Se agregó el Apéndice A, "Pautas para la sedimentación de muestras congeladas aplicables a Argentina".

Información importante sobre licencias: Este producto puede estar cubierto por una o más licencias de etiquetado de uso limitado. Mediante el uso de este producto, acepta los términos y condiciones de todas las licencias de etiquetado de uso limitado aplicables.

©2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific y sus subsidiarias a menos que se especifique lo contrario.