

Instrucciones para la prueba KIS™



Departamento de Agricultura de Estados Unidos
Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos
Julio de 2010



Resumen

La prueba KIS™ de Charm para riñones es una prueba para la detección de antibióticos en tejido renal. Su principio de detección es la inhibición microbiana. Las bacterias, cultivadas en agaragar con un medio indicador de pH púrpura y un extracto de riñón, generan ácidos que cambian el color del medio de cultivo a amarillo. En presencia de un antibiótico, se inhibe la proliferación bacteriana y la prueba permanece de color azul/púrpura. La prueba puede usarse para riñones frescos o descongelados.

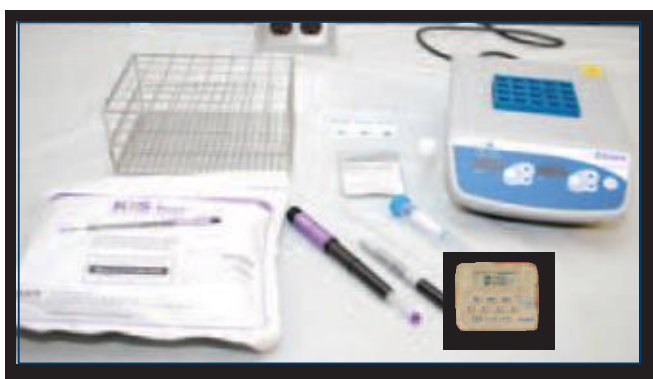
Luego de leer y revisar estas instrucciones para la prueba KIS, estará familiarizado con lo siguiente:

- ◆ El equipo y los suministros.
- ◆ Cómo preparar y almacenar el control negativo.
- ◆ Cómo obtener la muestra por frotado y realizar la prueba KIS.
- ◆ Cómo interpretar los resultados.

Equipo y suministros

Para realizar la prueba KIS, necesitará el equipo y los suministros detallados a continuación:

- ◆ Termobloque, como el calentador de bloque seco digital.
- ◆ Hisopo/dispositivo de prueba.
- ◆ Control negativo (control negativo reconstituido de Charm).
- ◆ Temporizador.
- ◆ Bolígrafo.
- ◆ Marcador indeleble.
- ◆ Agua desionizada o destilada.
- ◆ Dispositivo para aplicar 1 ml de agua.
- ◆ Gradilla, o soporte similar, para colocar las pruebas KIS.



Materiales requeridos para la prueba KIS™.
(Foto proporcionada por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos [USDA, por sus siglas en inglés])

1. PRUEBA KIS

A. Bolsa

Observe el número de lote en cada bolsa. Cada lote de tubos puede tener un tiempo de incubación requerido diferente. Por lo tanto, es importante que controle la etiqueta de la bolsa para conocer el tiempo de incubación.



B. Descripción del tubo

Este es el dispositivo individual de la prueba KIS. Consta de tres partes principales. La parte superior incluye el capuchón y el hisopo. La parte central es la cubierta del tubo o la sección intermedia. La parte inferior del dispositivo KIS es el frasco. Cada parte se analizará en detalle a continuación.



Capuchón e hisopo

El capuchón del dispositivo KIS se quita fácilmente para dejar al descubierto el hisopo.



Cubierta del tubo

Hay roscas moldeadas en la cubierta del tubo. Estas son las roscas que usted "encajará" cuando realice la prueba KIS. En la parte superior del tubo, encima de las roscas, se encuentra el borde tipo cortador de galletas.



Borde tipo cortador de galletas

Use este borde superior del tubo para cortar el riñón antes de realizar el frotado. Use el principio de las roscas como guía de profundidad para cortar, aproximadamente, 2 cm en la corteza del riñón.



Frasquito

El frasquito tiene una lámina de aluminio superior e inferior que el hisopo perforará. Entre estas dos láminas de aluminio, se encuentra una solución transparente. En la base del frasquito, verá el medio de cultivo o agaragar de color púrpura. Este medio o agaragar se tomará amarillo en ausencia de un antibiótico. Asegúrese de que el frasquito inferior esté apretado y asegurado en la cubierta del tubo cuando realice la prueba.



2. Uso del calentador de bloque seco digital



Según el momento en que se leerán los resultados, hay dos métodos para usar el calentador de bloque seco digital.

A. Lectura de resultados en modo temporizado durante 16 horas como máximo después del calentamiento

Al ajustar el temporizador, es importante restar 15 minutos al tiempo recomendado impreso en la etiqueta del kit de prueba. Esto se debe a que los tubos de ensayo podrán seguir incubándose y, luego, dejarse enfriar dentro de la unidad antes de la lectura. Enchufe el calentador de bloque seco digital y presione el botón “Standby” (En espera). Para ajustar la temperatura, presione las flechas arriba/abajo ubicadas a la derecha del indicador de temperatura hasta alcanzar la temperatura deseada de 64.0 °C. Al presionar una sola vez cualquiera de las teclas, la temperatura de ajuste se modificará 0.1 °C. Para cambiar la temperatura rápidamente, presione y mantenga presionadas las flechas arriba/abajo. Cuando suelte el botón, el indicador parpadeará para señalar que se ha aceptado la nueva

temperatura de ajuste. Para que la unidad comience a calentar hasta la temperatura de ajuste (64.0 °C), presione el botón de encendido/apagado ubicado a la derecha del indicador de temperatura para activar la función de calentamiento. Se encenderá una luz indicadora verde ubicada al lado del botón de encendido/apagado. El indicador de temperatura alternará entre la temperatura de ajuste y la temperatura real. Se emitirán tres señales sonoras para indicar que se alcanzó la temperatura del punto de ajuste. Es importante que deje que transcurran varios minutos para que la temperatura se establezca en todo el bloque antes de usarlo. Para ajustar el temporizador, presione las flechas arriba/abajo ubicadas a la derecha del indicador de tiempo hasta alcanzar el tiempo deseado. Para iniciar el temporizador, presione el botón de encendido/apagado ubicado a la derecha del indicador de tiempo. El temporizador comenzará el conteo regresivo. Al llegar a 00 minutos y 00 segundos (00:00), la unidad emitirá cinco señales sonoras. Las funciones de tiempo y de calentamiento se apagarán automáticamente, y el indicador de tiempo volverá de forma predeterminada al tiempo de ajuste. Para repetir para la misma temperatura y el mismo tiempo, presione el botón de encendido/apagado de la temperatura y deje que la temperatura alcance los 64.0 °C. Luego, simplemente presione el botón de encendido/apagado del temporizador para iniciar el temporizador. Consulte las instrucciones del fabricante para obtener más detalles sobre esta función.

B. Lectura de resultados en modo de calentamiento continuo 3 horas aproximadamente



Para el calentamiento continuo, que permite ciclos consecutivos, presione y mantenga presionado el botón de encendido/apagado ubicado a la derecha del indicador de tiempo. Transcurridos tres (3) segundos, el indicador mostrará el tiempo de ajuste anterior. Al presionar simultáneamente las flechas arriba y abajo, el indicador mostrará cero (0:00).

Asegúrese de que la temperatura esté en el punto de ajuste de 64.0 °C. Para iniciar el temporizador, presione el botón de encendido/apagado ubicado a la derecha del indicador de tiempo. Se recomienda enfáticamente que también se use un temporizador secundario, como un temporizador portátil. El temporizador mostrará el tiempo acumulado. Retire las pruebas cuando se haya alcanzado el tiempo recomendado impreso en la etiqueta del dispositivo KIS. Para detener el temporizador, simplemente presione el botón de encendido/apagado ubicado a la derecha del indicador del temporizador. Para restablecer el temporizador, para el siguiente lote, presione el mismo botón de encendido/apagado durante tres (3) segundos. Ahora debería mostrarse 0:00. Consulte las instrucciones del fabricante para obtener más detalles.

3. Ajuste del temporizador portátil

Para ajustar el temporizador portátil, presione las horas y los minutos para hacer que el tiempo coincida con el tiempo de incubación requerido. Presione el botón “Start” (Iniciar) para activar el temporizador. Una vez hecho eso, presione “Stop” (Detener) y, luego, “Clear” (Borrar) para restablecer el temporizador a cero. Lea las instrucciones del fabricante para obtener más detalles.



Procedimiento

1. Enchufe el calentador de bloque seco digital y presione el botón “Standby” (En espera).

Para ajustar la temperatura, presione las flechas arriba/abajo ubicadas a la derecha del indicador de temperatura hasta alcanzar la temperatura deseada de 64.0 °C. Al presionar una sola vez cualquiera de las teclas, la temperatura de ajuste se modificará 0.1 °C. Para cambiar la temperatura rápidamente, presione y mantenga presionadas las flechas arriba/abajo. Cuando suelte el botón, el indicador parpadeará para señalar que se ha aceptado la nueva temperatura de ajuste. Para que la unidad comience a calentar hasta la temperatura de ajuste (64.0 °C), presione el botón de encendido/apagado ubicado a la derecha del indicador de temperatura para activar la función de calentamiento. Se encenderá una luz indicadora verde ubicada al lado del botón de encendido/apagado. El indicador de temperatura alternará entre la temperatura de ajuste y la temperatura real. Tenga en cuenta que la temperatura real recomendada para la prueba es 64 °C ± 2 °C. Se emitirán tres señales sonoras para indicar que se alcanzó la temperatura del punto de ajuste. Es importante que deje que transcurran varios minutos para que la temperatura se establezca en todo el bloque antes de usarlo.

2. Cómo preparar y almacenar la solución de control negativo

Se deberá analizar un control negativo con cada lote de muestras. Coloque un comprimido de control negativo en el recipiente proporcionado y reconstituya el comprimido con 1 mililitro de agua desionizada o destilada. Agite el frasquito durante 10 segundos para disolver el comprimido. Agite el frasquito nuevamente una vez transcurridos cinco minutos. Ahora la solución de control negativo está lista para su uso. La solución de control negativo reconstituida podrá almacenarse refrigerada y usarse durante un máximo de 5 días. Etiquete como corresponda para garantizar el almacenamiento y el uso correctos.

Análisis

1. Para comenzar, seleccione la cantidad de pruebas KIS correspondiente a la cantidad de riñones que se analizarán. Recuerde que necesitará una prueba KIS adicional para el control negativo. Coloque todas las pruebas KIS en la gradilla.
2. Con el marcador indeleble, etiquete cada tubo que se usará con un identificador único para el riñón analizado. Por ejemplo, pueden registrarse los tres últimos dígitos del número de rótulo de conservación. Etiquete el tubo de control negativo como el control negativo.
3. Resulta útil aflojar los hisopos en todas las pruebas KIS antes de obtener la muestra por frotado de los riñones y alinear los riñones en el orden en que se analizarán.
4. A continuación, deje al descubierto el hisopo jalándolo de su mango para retirarlo de la cubierta del tubo KIS™. Con el extremo abierto expuesto tipo cortador de galletas de la cubierta del tubo KIS™, haga un corte circular de una profundidad aproximada de ½ pulgada (1 a 2 cm) en la corteza del riñón. Nota: Asegúrese de quitar la capa de grasa.
5. Sujete el mango para sostener el hisopo y coloque la punta de algodón en el interior del corte circular que hizo en el tejido renal. Gire y mueva la punta del hisopo alrededor del corte durante unos 30 segundos o hasta que el hisopo quede impregnado con líquido. Asegúrese de que el hisopo quede bien impregnado. Todo aspecto blanquecino en la punta de algodón del hisopo indica que se requiere más absorción. Quite todas las partículas del hisopo.
6. Coloque el hisopo impregnado con líquido renal nuevamente en la cubierta del tubo etiquetada, pero todavía **NO** perforo la lámina de aluminio superior del frasquito. Repita los pasos uno a cinco para todas las muestras de riñón que se analizarán.
7. Para el control negativo, coloque el hisopo del dispositivo KIS en el tubo de ensayo que contiene el control negativo reconstituido durante 10 segundos. Coloque el hisopo impregnado con control negativo en el tubo de control negativo etiquetado, pero todavía **NO** perforo la lámina de aluminio superior del frasquito.
8. A continuación, perforo la lámina de aluminio superior del frasquito con el hisopo impregnado con líquido renal y el hisopo con control negativo. Sujete el dispositivo KIS en posición vertical y, mientras presione hacia abajo, procesa lentamente a la activación encajando el capuchón con las roscas de la cubierta del tubo en el cuerpo del tubo. Enrosque hasta la mitad, para que el hisopo solo perforo el sello de lámina de aluminio superior del frasquito y llegue hasta el líquido transparente superior, pero no hasta el sello de lámina de aluminio inferior.



9. Inicie el temporizador de dos minutos. Se debe tener cuidado de no perforar el sello inferior. Si se perfora accidentalmente el sello inferior, enrosque el hisopo por completo y espere dos minutos. Repita los pasos anteriores para todos los hisopos y tenga en cuenta que cada hisopo debe quedar en la capa superior de líquido transparente durante dos minutos.

10. Una vez transcurridos los dos minutos, enrosque el hisopo por completo para que quede directamente encima del agaragar púrpura. Sujete la prueba KIS en posición vertical y, con delicadeza, dé 5 golpecitos al frasquito sobre una superficie dura para que el líquido residual baje hasta la parte superior del agaragar púrpura.

11. Retraiga por completo el hisopo y, con delicadeza, dé nuevamente 5 golpecitos al frasquito. Debería ver líquido en la parte superior del agaragar púrpura. Repita para todas las pruebas KIS.

12. Determine y seleccione el intervalo de lectura. Las pruebas pueden leerse en 3 horas aproximadamente o conservarse durante un máximo de 16 horas una vez que se haya producido el apagado automático y se haya dejado enfriar la prueba. Se recomienda enfáticamente que también se use un temporizador secundario, como un temporizador portátil.

a. Lectura de resultados en modo temporizado durante 16 horas como máximo después del calentamiento

Consulte la sección 2.A para obtener instrucciones sobre la preparación del instrumental.

Nota: Para leer las pruebas, consulte el paso 16 y asegúrese de permitir que los tubos permanezcan y se enfríen en el termobloque.

b. Lectura de resultados en modo continuo después de 3 horas aproximadamente.

Consulte la sección 2.B para obtener instrucciones sobre la preparación del instrumental.

Nota: Para leer las pruebas, consulte el paso 15 y asegúrese de retirar los tubos una vez transcurrido el tiempo establecido.

13. Revise el termobloque o el calentador de bloque seco digital para determinar si está estabilizado y la lectura es de $64\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

14. Inserte el control negativo y todas las pruebas KIS en el termobloque. Asegúrese de que cada uno de los frasquitos inferiores esté apretado y asegurado en la cubierta del tubo cuando lo inserte en el termobloque.



15. Retire las pruebas KIS y el control negativo, cuando se haya alcanzado el tiempo indicado en la etiqueta del dispositivo KIS y déjelas enfriar. Espere unos minutos antes de hacer una interpretación.

16. Si se usa la función de apagado automático, la estufa de incubación se enfriará y el color del frasquito permanecerá estable en la estufa de incubación durante un máximo de 16 horas.



Las pruebas deberían leerse transcurrido el tiempo de incubación recomendado. Si se realizan en el modo de apagado o si se retiran de la estufa de incubación, las pruebas estarán estables durante un máximo de 16 horas.

Interpretación

Compare el color del agaragar con la tarjeta de interpretación proporcionada con el kit de prueba. Lea los resultados bajo luz fluorescente blanca fría y compárelos con la carta de colores. No lea el color bajo luz solar directa. El control negativo deberá ser de color amarillo para que los resultados de las muestras se consideren válidos.

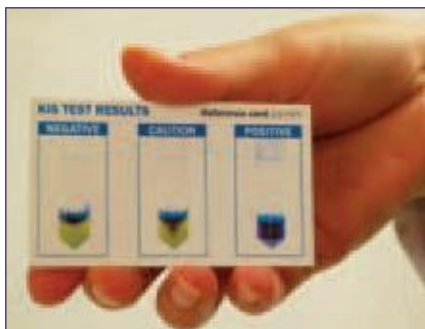
Resultados



◆ Los colores amarillo o amarillo/verde indican un resultado **negativo**.



◆ Los colores azul/púrpura indican un resultado **positivo**.
Cerciórese de que todo el frasquito esté de color púrpura.



◆ Los colores amarillo o amarillo/verde en la mitad inferior del frasquito con los colores azul/púrpura o marrón en la mitad superior del frasquito indican **PRECAUCIÓN**. Estas muestras **deberán** interpretarse como **negativas, ya que no hay un color azul/púrpura uniforme en todo el tubo**.

Conclusión

Resumiendo, ahora debería estar familiarizado con lo siguiente:

- ◆ El equipo requerido para la prueba KIS.
- ◆ Cómo preparar y almacenar el control negativo.
- ◆ Cómo usar el tubo para cortar el riñón.
- ◆ Cómo obtener una muestra por frotado del riñón cortado.
- ◆ Cómo realizar la prueba KIS.
- ◆ Cómo interpretar los resultados.



Departamento de Agricultura de Estados Unidos
Servicio de Inocuidad e Inspección de los
Alimentos



El USDA es un empleador y proveedor que
ofrece igualdad de oportunidades.