SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

현장을 이해하고, 필요한 솔루션을 연결합니다.

산업안전 · 추락방지 시스템
산업용 소재 · 건축자재
제품 제안부터 공급·시공·설치·교육까지



COMPANY INFORMATION

스냅슛 (SNAPSHOOT)

ADDRESS (15431) 경기도 안산시 단원구 풍전로 37-9 트리플렉스 301동 118호
TEL 0507-1374-9229
FAX 0504-481-6749
E-MAIL bkkim@snapshoot.co.kr

TECHNICAL DOCUMENTS

인증서 · 데이터시트 · 기술자료

제품의 규격과 성능, 인증 및 적용 조건을 확인하기 위한 자료입니다.

ABOUT SNAPSHOOT

제품 공급을 넘어, 현장에 맞는 해결책으로

스냅슛은 산업현장의 작업 환경과 요구 조건을 바탕으로
적합한 제품과 시스템을 제안합니다. 현장 실사를 통해 설치 조건을 확인하고,
공급부터 시공·설치 및 사용 교육까지 필요한 과정을 함께합니다.

추락방지 시스템

안전대부착설비 · 수평·수직 라이프라인
레일 시스템 · 리지드 포스트

밀폐공간 진입·구조 솔루션

데빗암 · 삼각대 · 구조용 윈치
윈치 안전블록 · 구조장비

산업안전 보호구

전신형 안전대 · 랜야드 · 안전블록
작업 환경에 맞춘 개인보호구

산업용 소재·건축자재

산업용 테이프 · 접착제 · 기능성 소재
구조용 스크류 · 목조건축 자재

SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

홈페이지 바로가기 →
문서 라이브러리 바로가기 →
시공사례 바로가기 →
문의하기 →

본 페이지는 스냅슛의 자료 제공 안내용 표지입니다. 첨부된 인증서 및 기술자료의 발행 주체, 인증 대상과 적용 범위는 해당 원문을 기준으로 확인해 주세요.

Read instructions carefully before starting test

NEOGEN® ANSR®

for *Listeria*

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 101202

INTENDED USE

In an AOAC Research Institute Performance Tested℠ Method study, ANSR for *Listeria* has been found to be an effective procedure for detection of *Listeria* spp. in deli turkey, hot dogs, fermented sausage, pasteurized milk, Mexican-style cheese, ice cream, smoked salmon, lettuce, cantaloupe, guacamole, pasteurized liquid egg and sponge or swab samples from stainless steel, plastic, ceramic, sealed concrete and rubber environmental surfaces.

Although the ANSR test chemistry detects *L. grayi*, detection of this species in enriched samples will be variable depending on the ability of individual strains to grow under the enrichment conditions used in the method.

ASSAY PRINCIPLES

ANSR for *Listeria* is an isothermal, amplified nucleic acid assay. The ANSR for *Listeria* method is based on nicking enzyme amplification reaction (NEAR™) technology preceded by the reverse transcription of 23S ribosomal RNA. Target complementary DNA is amplified through a mechanism of polymerization from the ends of nicks created in double-stranded DNA by the action of a specific endonuclease. Amplified target sequences are detected in real time using fluorescent molecular beacon probes.

A 2-stage lysis reaction is performed, first at 37 ± 2°C for 10 minutes, then at 80 ± 2°C for 20 minutes. Next, a portion of the lysed sample is transferred to a strip tube containing lyophilized ANSR reagents. The tubes are sealed and incubated at 56 ± 2°C on the ANSR reader. Results are generated by the reader and displayed in the ANSR software within 18 minutes. Positive results may be confirmed from the enrichment cultures following standard procedures. Each tube of ANSR reagents contains an internal positive control, ensuring that the reagents are functioning properly.

INTENDED USER

The ANSR for *Listeria* test is designed for use by personnel with appropriate training in microbiology. Training in the use of the ANSR test system is available through NEOGEN.

MATERIALS PROVIDED

1. 12 strips of 8 cluster tubes, 1.2 mL
2. 12 strips of 8 reaction tubes, 200 µL, containing lyophilized ANSR for *Listeria* reagents in 2 sealed foil pouches with desiccant pack
3. 12 strips of 8 permanent caps for reaction tubes
4. 1 bottle lysis reagent suspension buffer, 60 mL
5. 3 vials containing lyophilized lysis reagents
6. 1 kit insert

EQUIPMENT REQUIRED

1. ANSR reader (NEOGEN item 9828)
2. Computer and software for connection to ANSR reader (NEOGEN item 9832)
3. 1 dual heater block with aluminum block inserts for 1.2 mL cluster tubes, 80 ± 2°C and 37 ± 2°C (NEOGEN items 9386-48D, 9829-48) **OR** two single heater blocks with aluminum block inserts for 1.2 mL cluster tubes, 80 ± 2°C and 37 ± 2°C (NEOGEN items 9386-48D, 9829-48)
4. Pipettor, 100–1000 µL (NEOGEN item 9463)
5. Pipette tip rack, 100–1000 µL, sterile, 96 tips (NEOGEN item 9487)
6. Pipettor, 10–100 µL, 8-channel (NEOGEN item 9388)
7. Pipette tips, 100 µL, sterile, filtered, 96 tips (NEOGEN item 9389)
8. Vortex mixer, adjustable speed (NEOGEN item 9494)
9. Stomacher (optional)
10. 3 thermometers, traceable (NEOGEN item 9518)
11. Timer, 3-channel (NEOGEN item 9426)
12. Optional-for use-heater block with 0.2 mL reaction tube aluminum block insert, 56 ± 2°C (NEOGEN items 9386-48D, 9829-48)
13. Webcam (NEOGEN item WEBCAM)
14. ANSR Ethernet cable (NEOGEN item 9835)
15. 10 mL pipette pump (NEOGEN item 9277)
16. Pipettes, sterile serological (NEOGEN item 8686)
17. 40-slot, 20 mm test tube rack, autoclavable (NEOGEN item 9553)
18. Pipettor, 20–200 mL (NEOGEN item 9276)

OTHER MATERIALS REQUIRED

1. Stomacher-type bags for sample enrichment. Filtered bags are recommended (NEOGEN item 6827)
2. Graduated cylinder, 250 mL (NEOGEN item 9368)

MEDIA ENRICHMENT BROTH REQUIRED

1. ANSR for *Listeria* Enrichment Broth 1 (NEOGEN item 9814) — for environmental samples
2. LESS Medium, 500 g bottle (NEOGEN item 9790A) — for food samples except meats
3. Reveal Buffered *Listeria* Enrichment Broth (BLEB), 500 g bottle (NEOGEN item 9786) — for meat samples. Also used for confirmation, see page 6.
4. LESS Plus Medium, 500 g bottle (NEOGEN item 9880) — for select matrices.
5. 1 L purified water
6. Phosphate Buffered Saline (if testing smoked salmon or guacamole) (NEOGEN item 8425)

STORAGE

Store ANSR reagents at 2–8°C. After removing reaction tubes from the foil pouch, promptly re-seal the pouch. Leave the desiccant pack in the pouch at all times.

PRECAUTIONS

1. Use good microbiology laboratory practices.
2. **Dispose of used pipette tips in a covered container containing a fresh solution of 10% bleach. The 10% beach solution should be made fresh each day. Use 9 parts water with 1 part commercially available household-strength bleach to make the 10% bleach solution. Undiluted stock solutions of bleach should be used within 30 days after opening.**
3. **Discard bleach solution and tips as regular waste at the end of each day.**
4. *Listeria monocytogenes* is a known hazard to pregnant women and immunocompromised individuals. Consult with your facility safety director for specific instructions.
5. Do not use reagents beyond the expiration date.
6. Enrichment media should be prewarmed to incubation temperature (all protocols) before use.
7. Use of enrichment media and incubation times or temperatures other than those specified may lead to erroneous results.
8. Remove reaction tubes from the foil pouch just before use and keep covered until heating process begins. Reseal the pouch containing the remaining reaction tubes to **avoid prolonged exposure to light.** More than 15 minutes of total exposure time may lead to erroneous results.
9. Do **NOT**, under any circumstance, remove caps from reaction tubes **AFTER** the assay has been started. This is essential in order to prevent accidental contamination of the environment with amplification products.
10. Exercise care in all pipetting steps to avoid cross-contamination of samples.
11. Complete all assay steps in sequence, avoiding delays between steps.
12. Tap reaction tubes on bench top to make sure lyophilized reagents are at the bottom of the tube prior to adding lysed sample.

PREPARATION OF ENRICHMENT BROTH

Prepare all media according to manufacturer's instructions.
NOTE: Use rehydrated media the same day as prepared.

SAMPLE ENRICHMENT

Environmental samples

1. Place the sponge or swab sample in a Stomacher-type bag or tube.
2. Add an appropriate amount of **ANSR for *Listeria* Enrichment Broth 1** (NEOGEN item 9814) that has been prewarmed to 36 ± 1°C. For sponge samples, an appropriate amount typically is 100–200 mL. For swab samples, it typically is 10 mL.
3. Incubate the culture at 36 ± 1°C for **16–24 hours**.

Food samples

1. Weigh out 25 g of sample in a Stomacher-type bag.
2. Add 225 mL LESS Medium prewarmed to 36 ± 1°C to the bag. Homogenize (Stomacher, etc.) the sample as appropriate for the sample type.
3. Incubate the culture at 36 ± 1°C for **16–24 hours**. For Mexican-style cheese, milk and smoked salmon, incubate **22–26 hours**.
   NOTE: For larger sample sizes, maintain a 9:1 ratio of enrichment broth to sample.

Meat samples

1. Weigh out 125 g of sample in a Stomacher-type bag.
2. Add 1125 mL of Reveal BLEB prewarmed to 36 ± 1°C to the bag. Homogenize (Stomacher, etc.) the sample as appropriate for the sample type.
3. Incubate the culture at 36 ± 1°C for **22–26 hours**.

ALTERNATIVE SAMPLE ENRICHMENT – For select matrices

Environmental Samples

1. Place the sponge or swab sample in a Stomacher-type bag or tube.
2. Add an appropriate amount of LESS Plus Medium (NEOGEN item 9880) prewarmed to 36 ± 1°C to the bag or tube. 100 mL and 10 mL of medium are recommended for sponge and swab samples, respectively.
3. Incubate the culture at 36 ± 1°C for **16–24 hours**.

Cantaloupe

1. Weigh out 25 g of sample in a Stomacher-type bag.
2. Add 225 mL LESS Plus Medium (NEOGEN item 9880) prewarmed to 36 ± 1°C to the bag. Homogenize (Stomacher or equivalent) the sample as appropriate for the sample type.
3. Incubate the culture at 36 ± 1°C for **16–24 hours**.

Hot dogs and Mexican-style cheese

1. Weigh out 125 g of sample in a Stomacher-type bag.
2. Add 375 mL LESS Plus Medium (NEOGEN item 9880) prewarmed to 36 ± 1°C to the bag. Homogenize (Stomacher or equivalent) the sample as appropriate for the sample type.
3. Incubate the culture at 36 ± 1°C for **22–26 hours**.

LYSIS REAGENT SOLUTION PREPARATION

1. Reconstitute 1 vial of lyophilized lysis reagents with 18 mL of lysis reagent suspension buffer by adding the buffer to the reagent vial. Swirl gently to mix.
   NOTE: 1 vial of lysis reagents is enough for approximately 32 samples. Prepared lysis reagent solution can be stored at 2–8°C for up to 30 days.

ANSR TEST PROCEDURE

Prior to starting the assay:

1. Preheat one lysis heater block to 80 ± 2°C. Preheat the second lysis heater block to 37 ± 2°C. If using the optional single heater, preheat to 56 ± 2°C. Use the thermometer for the temperature reading.
2. Remove the foil pouch containing the reaction tubes from the refrigerator and **allow them to warm at room temperature for 15 minutes**. To avoid excess light exposure, leave reaction tubes in foil pouch until they are needed.
   NOTE: The lysis reagent solution should also be allowed to be at room temperature for 15 minutes before use.

3. Connect the ANSR reader to the computer via USB or Ethernet and turn the computer on.
4. Turn on the ANSR reader. The reader will preheat to 56 ± 2°C.
5. Start the ANSR software and click the Connect button. Input sample IDs, lot number and user information.
   NOTE: For instructions on using the reader and software, see the user guide that came with the ANSR reader.

ASSAY PROCEDURE

NOTE: Certain sample types require dilution of the enrichment culture prior to the assay. For smoked salmon, guacamole, pasteurized liquid egg and meat samples, dilute the enrichment culture 1:10 in Phosphate Buffered Saline (PBS) and use 50 µL of the dilution for the ANSR assay.

OPTIONAL: Pre-pierced plate sealing film (BIO RAD Item 3600040) can be placed over the 1.2mL cluster tubes if desired.

1. Add 50 µL enrichment culture to a 1.2 mL cluster tube(s) using a pipettor with 100 µL filtered tips. **NOTE:** Cluster tubes may be pulled apart to provide the number of tubes needed.
2. Add 450 µL lysis reagent solution to each cluster tube(s) containing culture. Be sure to switch pipette tips between samples. **NOTE**: Return the lysis reagent solution to the refrigerator after use (within 1 hour).
3. Incubate the cluster tube(s) at 37 ± 2°C for **10 minutes**.
4. Immediately transfer the cluster tube(s) to the 80 ± 2°C heater block and incubate for **20 minutes**. **NOTE:** The 80 ± 2°C incubation time may be extended to a total of **60 minutes** for the purpose of managing staggered assay start times.
5. For **3 to 5 minutes** before the end of the lysis step, preheat the ANSR reagents to 56 ± 2°C by placing the reaction tubes in the ANSR reader. Optional: A separate heat block can be used. It should be heated to 56 ± 2°C. **NOTE:** The strip of reaction tubes may be cut to provide the number of tubes needed. Keep all unused tubes in the sealed foil pack. Ensure the pellet in the reaction tube(s) is at the bottom by tapping the tubes gently on the bench top.
6. After the completion of the 20–60 minute lysis incubation, remove and discard the caps from the reaction tube(s) in the ANSR reader. **IMPORTANT:** Proceed with steps 7–9 without delay. **The transfer of the sample from the lysis tubes to the reaction tubes should be completed within 1 minute.**
7. Using an 8-channel pipette and 100 µL filter tips, carefully transfer 50 µL from the top third of the lysed sample(s) in the cluster tube(s) to the reaction tube(s). Debris may accumulate at the bottom of the lysis tube(s) that will interfere with assay performance. Avoid transfer of debris by aspirating from the top third of the lysis tube(s). Do not prime the pipette tips and do not mix before aspirating. **Place the provided permanent cap(s) on the reaction tube(s). NOTE:** Lysed sample may be transferred from the same cluster tube a maximum of 3 times.
8. Remove the strips(s) of tubes from the reader (or 56 ± 2°C heat block if one was used) and vortex briefly (about 2 seconds) at medium/high speed (2500 RPM). Quickly visually check each reaction tube to assure that no bubbles are on the bottom or in the middle of the sample. A quick tap of the tubes should release any bubbles from the bottom or middle to the top. Then place into

the reader without delay. Close the reader's lid. **NOTE**: The reader will not provide accurate results if the lid is open. Keep the lid closed at all times while the assay is running. Contamination may occur if the permanent caps are not placed on the reaction tubes and/or if the permanent caps are removed.

9. Click **START** in the ANSR software to begin the **18 minute** assay.
10. Results will be displayed as positive, negative or invalid once the assay is finished. If the result displays an invalid, the test must be repeated. A single repeat test can be run starting at step 6. Alternatively, start over from step 1 if lysis from step 6 has been at 80 ± 2°C for more than 60 minutes.

INTERPRETATION OF RESULTS

The ANSR software will indicate the test results as positive or negative for the presence of *Listeria* spp. in the enriched sample. In addition, the real-time fluorescence curve generated from the assay can be viewed.

CONFIRMATION

Samples producing positive ANSR results may be confirmed by streaking the enrichment cultures to *Listeria* selective/differential agar media and continuing with identification of presumptive colonies following standard methods [1,2].

For certain sample types (e.g., processed meats, milk, cheese, ice cream, lettuce and guacamole), a secondary broth enrichment may be necessary prior to plating to reduce background flora. Transfer 0.1 mL of the primary enrichment culture to a tube containing either 10 mL of Buffered *Listeria* Enrichment Broth[2] (BLEB) or, in the case of meat commodities, 10 mL of MOPS-BLEB. Incubate either the BLEB culture for **26 ± 2 hours** at 35 ± 2°C, or the MOPS-BLEB culture for **18-24 hours** at 35 ± 2°C, then proceed with streaking to selective/differential agar media and subsequent identification per standard methods.

DISPOSAL

Enrichment cultures and used lysis tubes should be disposed of as biohazard waste. The preferred method of treatment for biohazard waste is autoclaving. Items that **CANNOT** be autoclaved, such as used reaction tubes and caps, should be immersed in a fresh 10% bleach solution that is made daily. Consult with the safety advisor of your facility for detailed instructions.

Do **NOT** remove the permanent caps, for **ANY** reason, from the ANSR reaction tubes once the assay has started, even when disposing of them. Reaction tubes can be disposed of as non-biohazardous waste. It is recommended that they be placed in a sealable container or plastic bag with 10% bleach and immediately disposed of to protect against accidental opening.

CUSTOMER SERVICE

NEOGEN Customer Assistance and Technical Services can be reached by using the contact information on the back of this booklet. Training on this product, and all NEOGEN test kits, is available.

SDS INFORMATION AVAILABLE

Safety data sheets (SDS) are available for this test kit, and all of NEOGEN's test kits, on NEOGEN's website at neogen.com, or by calling NEOGEN at 800.234.5333 or 517.372.9200.

TERMS AND CONDITIONS

For NEOGEN's full terms and conditions, please visit neogen.com/terms-and-conditions/

WARRANTY

NEOGEN Corporation makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, NEOGEN will provide a replacement of the product. Buyer assumes all risk and liability resulting from the use of this product. There is no warranty of merchantability of this product or of the fitness of the product for any purpose. NEOGEN shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.

NEOGEN ANSR Molecular Diagnostic for Foodborne Pathogen Detection – limited use label license

SYTO® 82

SYTO® 82 contained within this product is provided under an intellectual property license from Life Technologies Corporation, Eugene, OR, and may be used for *in vitro* detection and analysis of (i) food, feeds and beverages, including nutraceuticals, (ii) ingredients for food, feeds and beverages, (iii) process samples from food, feed and beverage preparation, distribution and delivery, and (iv) water from any source for human consumption, all for the purpose of safety and quality assurance. The buyer must not sell or otherwise transfer this product or its components for any other use, including but not limited to: human *in vitro*, veterinary, identity or paternity testing, forensics, or *in vivo* detection of nucleic acid sequences in living beings, or cells. For information on purchasing a license for SYTO 82 for purposes other than food, beverage and water safety, and quality assurance, contact Life Technologies Corporation at outlicensing@lifetech.com.

Molecular beacon probes

One or more molecular beacon probes contained within this product is sold under license from PHRI Properties and may be used under PHRI Properties patent rights only for tests on food products, feeds, beverages and water.

NEAR™ Technology

This product utilizes the patented NEAR isothermal technology and is sold under license from Ionian Technologies, San Diego, CA, and may be used under Ionian Technologies patent rights only for tests on food, beverage and water safety.

References

[1] USDA-FSIS (2011) Microbiology Laboratory Guidebook, chapter 8.07
http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/1710bee8-76b9-4e6c-92fc-fdc290dbfa92/MLG-8.pdf?MOD=AJPERES

[2] USDA-FDA (2013) Bacteriological Analytical Manual, chapter 10
http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm071400.htm

PRODUCTS AVAILABLE

9465 **Environmental sampling sponges** (with Dey Engley (DE) neutralizing broth) – pack of 100

36002 **Sampling sponges, pre-moistened, HiCap** – pack of 100

9822 **ANSR for *E. coli* O157:H7** – up to 96 tests

9824 **ANSR for *Listeria monocytogenes*** – up to 96 tests

9870 **ANSR for *Salmonella*** – up to 96 tests

9871 **ANSR for *Listeria*** – up to 96 tests

9872 **ANSR for *Campylobacter*** – up to 96 tests

9873 **ANSR for *Listeria* Right Now™** – up to 96 tests

9837 **Complete ANSR Equipment Kit** – Reader, computer, pipette set, dry bath heaters and inserts, thermometers, vortex, time, rack

North America
NEOGEN Headquarters
800.234.5333 (USA/Canada)
foodsafety@neogen.com
NEOGEN.com

Europe, Middle East and Africa
NEOGEN Europe
+ 44 (0) 1292 525 600
info_uk@neogeneurope.com
NEOGEN.com

Mexico
NEOGEN Latinoamerica
+52 (55) 5254-8235
informacion@neogenlac.com
NEOGEN.com

Brazil
NEOGEN do Brasil
+55 19 3935.3727
info@neogendobrasil.com.br
NEOGEN.com

China
NEOGEN Bio-Scientific Technology
+86 21 6271 7013
info@neogenchina.com.cn
www.neogenchina.com.cn

India
NEOGEN Food and Animal Security
+91 484 2306598, 2301582
info@neogenindia.com
www.neogenindia.com

© NEOGEN Corporation, 2020. NEOGEN and ANSR are registered trademarks of NEOGEN Corporation. All other brand and product names are trademarks or registered trademarks of their respective companies.
Patent: https://www.neogen.com/patents/

Producto 9871

Por favor lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba

NEOGEN® ANSR® para *Listeria*

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 101202

USO PREVISTO

En un estudio Performance Tested Method℠ realizado por el Instituto de Investigación de la AOAC, se encontró que ANSR para *Listeria* es un procedimiento efectivo para detectar la presencia de *Listeria* spp. en pavo, perros calientes, embutidos fermentados, leche pasteurizada, queso estilo mexicano, helado, salmón ahumado, lechuga, melón cantalupo, guacamole, huevo líquido pasteurizado y esponjas o hisopos con muestra de acero inoxidable, plástico, cerámica, hormigón sellado y superficies ambientales de caucho.

Aunque la química de la prueba de ANSR puede detectar *L. grayi*, la detección de esta especie en muestras enriquecidas variará dependiendo de la capacidad de cepas individuales para crecer bajo las condiciones de enriquecimiento usadas en el método.

FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS

La tecnología de ANSR para *Listeria* es un ensayo de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos.

El método se basa en la tecnología de reacción de amplificación de endonucleasas (NEAR™), precedida por la transcripción inversa del ARN ribosomal 23S. El ADN complementario de interés es amplificado a través de un mecanismo de polimerización, a partir de los extremos de los cortes creados en el ADN de doble cadena mediante la acción de una endonucleasa específica. Las secuencias de interés amplificadas se detectan en tiempo real usando sondas fluorescentes de baliza molecular.

Se realiza una reacción de lisis de dos etapas; la primera a 37 ± 2°C durante 10 minutos y luego a 80 ± 2°C durante 20 minutos. A continuación, una porción de la muestra lisada se transfiere a un tubo de tira que contiene reactivos ANSR liofilizados. Los tubos se sellan y se incuban a 56 ± 2°C en el lector ANSR. Los resultados son generados por el lector y mostrados en el software ANSR dentro de 18 minutos. Los resultados positivos pueden ser confirmados a partir de los medios de enriquecimiento siguiendo procedimientos estándar. Cada tubo de reactivos ANSR contiene un control interno positivo, asegurando que los reactivos están funcionando correctamente.

USUARIO PREVISTO

La prueba ANSR para *Listeria* está diseñada para ser utilizada por personal con entrenamiento adecuado en microbiología. El entrenamiento sobre el uso del sistema de prueba ANSR está disponible a través de NEOGEN.

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. 12 tiras de 8 tubos cluster de 1.2 mL
2. 12 tiras de 8 tubos de reacción, 200 µL, que contienen reactivos ANSR para *Listeria* liofilizados en 2 bolsas de aluminio selladas con un paquete desecante
3. 12 tiras de 8 tapas permanentes para los tubos de reacción
4. 1 botella de buffer de suspensión del reactivo de lisis, 60 mL
5. 3 viales con reactivos de lisis liofilizados
6. Instrucciones del kit

EQUIPO REQUERIDO

1. Lector ANSR (producto NEOGEN 9828)
2. Computadora y software para la conexión del lector ANSR (producto NEOGEN 9832)
3. 1 bloque térmico doble con piezas de aluminio para los tubos de 1.2 mL, 37 ± 2°C y 80 ± 2°C (productos NEOGEN 9386-48D, 9829-48) **O** dos bloques térmicos individuales con piezas de aluminio para tubos de 1.2 mL, 37 ± 2°C y 80 ± 2°C (productos NEOGEN 9386-48D, 9829-48)
4. Pipeteador, 100–1000 µL (producto NEOGEN 9463)
5. Gradilla para puntas de pipeta, 100–1000 µL, estériles, 96 puntas (producto NEOGEN 9487)
6. Pipeteador, 10–100 µL, 8 canales (producto NEOGEN 9388)
7. Puntas de pipeta, 100 µL, estériles, con filtro, 96 puntas (producto NEOGEN 9389)
8. Vortex, velocidad ajustable (producto NEOGEN 9494)
9. Stomacher (opcional)
10. 3 termómetros, rastreables (producto NEOGEN 9518)
11. Cronómetro, 3 canales (producto NEOGEN 9426)
12. Bloque térmico opcional con pieza de aluminio para tubos de reacción de 0.2 mL, 56 ± 2°C (productos NEOGEN 9386-48D, 9829-48)
13. Webcam (producto NEOGEN WEBCAM)
14. Cable de Ethernet ANSR (producto NEOGEN 9835)
15. Bomba para pipeta (producto NEOGEN 9277)
16. Pipetas serológicas, estériles, 10 mL (producto NEOGEN 8686)
17. Gradilla de 40 ranuras para tubos de ensayo de 20 mm, autoclavable (producto NEOGEN 9553)
18. Pipeteador, 20–200 mL (producto NEOGEN 9276)

OTROS MATERIALES REQUERIDOS

1. Bolsas tipo Stomacher para el enriquecimiento de muestras. Se recomienda utilizar bolsas con filtro (producto NEOGEN 6827)
2. Cilindro graduado, 250 mL (producto NEOGEN 9368)

CALDOS DE ENRIQUECIMIENTO REQUERIDOS

1. Caldo de enriquecimiento 1 ANSR para *Listeria* (producto NEOGEN 9814)—para muestras ambientales.
2. Medio LESS, botella de 500 g (producto NEOGEN 9790A)—para muestras de alimentos, excepto carnes.

3. Caldo de enriquecimiento para *Listeria* tamponado (BLEB) Reveal, botella de 500 g (producto NEOGEN 9786)—para muestras cárnicas. También se utiliza para confirmación; vea la página 14.
4. Medio LESS Plus, botella de 500 g (producto NEOGEN 9880)—para matrices selectas.
5. 1 L de agua purificada
6. Buffer fosfato salino (si analiza salmón ahumado o guacamole) (producto NEOGEN 8425)

ALMACENAMIENTO

Almacene los reactivos de ANSR a 2–8°C. Después de retirar los tubos de reacción de la bolsa de aluminio, vuelva a sellarla rápidamente. Deje el paquete desecante en la bolsa en todo momento.

PRECAUCIONES

1. Utilice buenas prácticas de laboratorio de microbiología.
2. **Deseche las puntas de pipetas usadas en un recipiente cubierto que contenga una solución fresca de cloro al 10%. La solución de cloro al 10% debe ser nueva cada día. Use 9 partes de agua con 1 parte de blanqueador de uso doméstico para hacer la solución de cloro al 10%. Las soluciones concentradas deben utilizarse dentro de los 30 días posteriores a la apertura.**
3. **Deseche la solución de cloro y las puntas como basura regular al final de cada día.**
4. *Listeria monocytogenes* es un peligro conocido para mujeres embarazadas e individuos inmunocomprometidos. Consulte con el director de seguridad de su instalación para obtener instrucciones específicas.
5. No utilice los reactivos luego de su fecha de expiración.
6. Los medios de enriquecimiento deben pre-calentarse a la temperatura de incubación (todos los protocolos) antes de uso.
7. El uso de medios de enriquecimiento y tiempos de incubación o temperaturas diferentes a las especificadas pueden dar lugar a resultados erróneos.
8. Retire los tubos de reacción de la bolsa de aluminio justo antes de su uso y manténgalos cubiertos hasta que comience el proceso de calentamiento. Vuelva a sellar la bolsa que contiene los tubos de reacción restantes para **evitar la exposición prolongada a la luz**. Más de 15 minutos de tiempo total de exposición pueden conducir a resultados erróneos.
9. **NO** retire, bajo ninguna circunstancia, las tapas de los tubos de reacción **DESPUÉS** de que se haya iniciado el ensayo. Esto es esencial para prevenir la contaminación accidental del ambiente con productos de amplificación.
10. Tenga cuidado en todos los pasos de pipeteo para evitar la contaminación cruzada de las muestras.
11. Complete todos los pasos del ensayo en secuencia, evitando retrasos entre los pasos.
12. Golpee los tubos de reacción en la mesa para asegurarse de que los reactivos liofilizados estén en el fondo del tubo antes de añadir la muestra lisada.

PREPARACIÓN DEL CALDO DE ENRIQUECIMIENTO

Prepare todos los medios de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
NOTA: Use los medios rehidratados el mismo día que los preparó.

ENRIQUECIMIENTO DE LA MUESTRA

Muestras ambientales

1. Coloque la esponja o hisopo con muestra en una bolsa tipo Stomacher o en un tubo.
2. Añada una cantidad apropiada del **caldo de enriquecimiento 1 ANSR para *Listeria*** (producto NEOGEN 9814) que ha sido precalentado a 36 ± 1°C. Para esponjas con

muestra, una cantidad apropiada típicamente es 100–200 mL. Para hisopos con muestra, típicamente es 10 mL.
3. Incube el cultivo a 36 ± 1°C durante **16–24 horas**.

Muestras de alimentos

1. Pese 25 g de muestra en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada a la bolsa 225 mL del medio LESS precalentado a 36 ± 1°C. Homogeneice (Stomacher, etc.) la muestra según corresponda para el tipo de muestra.
3. Incube el cultivo a 36 ± 1°C durante **16–24 horas**. Para queso estilo mexicano, leche y salmón ahumado, incube **22–26 horas**.
   NOTA: Para muestras más grandes, mantenga una proporción de 9:1 de caldo de enriquecimiento a la muestra.

Muestras cárnicas

1. Pese 125 g de muestra en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada a la bolsa 1125 mL de BLEB Reveal precalentado a 36 ± 1°C. Homogeneice (Stomacher, etc.) la muestra según corresponda para el tipo de muestra.
3. Incube el cultivo a 36 ± 1°C durante **22–26 horas**.

ENRIQUECIMIENTO DE MUESTRA ALTERNATIVO – Para matrices selectas

Muestras ambientales

1. Coloque la esponja o hisopo con muestra dentro de una bolsa tipo Stomacher o en un tubo.
2. Añada una cantidad apropiada del medio LESS Plus (producto NEOGEN 9880) precalentado a 36 ± 1°C. Se recomiendan 100 mL y 10 mL del medio para esponjas e hisopos con muestra, respectivamente.
3. Incube el cultivo a 36 ± 1°C durante **16–24 horas**.

Melón cantalupo

1. Pese 25 g de la muestra en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada a la bolsa 225 mL del medio LESS Plus (producto NEOGEN 9880) precalentado a 36 ± 1°C. Homogeneice (Stomacher, etc.) la muestra según corresponda para el tipo de muestra.
3. Incube el cultivo a 36 ± 1°C durante **16–24 horas**.

Perros calientes y queso estilo mexicano

1. Pese 125 g de la muestra en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada a la bolsa 375 mL del medio LESS Plus (producto NEOGEN 9880) precalentado a 36 ± 1°C. Homogeneice (Stomacher, etc.) la muestra según corresponda para el tipo de muestra.
3. Incube el medio a 36 ± 1°C durante **22–26 horas**.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE REACTIVO DE LISIS

1. Reconstituya 1 vial de reactivos de lisis liofilizados con 18 mL de buffer de suspensión de reactivos de lisis, añadiendo el buffer al vial del reactivo. Revuelva suavemente para mezclar.
   NOTA: 1 vial de reactivos de lisis es suficiente para aproximadamente 32 muestras. La solución de reactivos de lisis preparada puede ser almacenada a 2–8°C durante un máximo de 30 días.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA ANSR

Antes de iniciar el ensayo:

1. Precaliente un bloque térmico de lisis a 80 ± 2°C. Precaliente el segundo bloque térmico de lisis a 37 ± 2°C. Si usa el bloque térmico individual, precaliente a 56 ± 2°C. Use el termómetro para leer la temperatura.

2. Retire la bolsa de aluminio que contiene los tubos de reacción del refrigerador y **deje que se caliente a temperatura ambiente durante 15 minutos.** Para evitar el exceso de exposición a la luz, deje los tubos de reacción en la bolsa de aluminio hasta que se necesiten. **NOTA**: La solución del reactivo de lisis también debe dejarse a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de su uso.
3. Conecte el lector ANSR a la computadora a través de un USB o cable ethernet y encienda la computadora.
4. Encienda el lector ANSR. El lector se precalentará a 56 ± 2°C.
5. Inicie el software ANSR y haga clic en el botón de conexión. Introduzca los identificadores de muestras, número de lote e información de usuario. **NOTA**: Para obtener instrucciones sobre cómo usar el lector y el software, consulte la guía del usuario incluida con el lector ANSR.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

NOTA: Ciertos tipos de muestra requieren la dilución del medio de enriquecimiento antes del ensayo. Para muestras de salmón ahumando, guacamole, huevo líquido pasteurizado y carne, diluya el medio de enriquecimiento 1:10 en un buffer fosfato salino (PBS) y use 50 µL de la dilución para el ensayo ANSR.

OPCIONAL: Si se desea, la película selladora de la placa preperforada (BIO RAD, artículo 3600040) se puede colocar sobre los tubos cluster de 1.2 mL.

1. Añada 50 µL del medio de enriquecimiento en un(os) tubo(s) cluster de 1.2 mL usando un pipeteador con puntas con filtros de 100 µL. **NOTA:** Los tubos cluster pueden ser separados para proporcionar el número de tubos necesarios.
2. Añada 450 µL de solución de reactivo de lisis a cada tubo cluster que contenga cultivo. Asegúrese de cambiar las puntas de la pipeta entre cada muestra. **NOTA**: Devuelva la solución del reactivo de lisis al refrigerador después de su uso (dentro de 1 hora).
3. Incube los tubos cluster a 37 ± 2°C durante **10 minutos.**
4. Transfiera inmediatamente los tubos cluster al bloque térmico a 80 ± 2°C e incube durante **20 minutos**.
   NOTA: El tiempo de incubación de 80 ± 2°C puede extenderse hasta un total de **60 minutos** con el fin de gestionar los tiempos de inicio del ensayo escalonados**.**
5. Al menos **3–5 minutos** antes de terminar la etapa de lisis, precaliente los reactivos ANSR a 56 ± 2°C colocando los tubos de reacción en el lector ANSR. Opcional: Se puede usar un bloque térmico separado. Se debe calentar a 56 ± 2°C. **NOTA:** La tira de tubos de reacción puede cortarse para proporcionar el número de tubos necesarios. Mantenga todos los tubos sin usar en la bolsa de aluminio sellada. Asegúrese de que el gránulo en los tubos de reacción esté en la parte inferior golpeando suavemente los tubos en la mesa.
6. Después de completar la incubación de lisis de 20-60 minutos, retire y deseche las tapas de los tubos de reacción en el lector ANSR. **IMPORTANTE:** Proceda con los pasos 7–9 sin demora. **La transferencia de la muestra de los tubos de lisis a los tubos de reacción debe completarse en 1 minuto.**
7. Usando una pipeta de 8 canales y puntas con filtro de 100 µL, transfiera cuidadosamente 50µL del tercio superior de la(s) muestra(s) en el(los) tubo(s) cluster al(a los) tubo(s) de reacción. Se pueden acumular residuos en la parte inferior del(de los) tubo(s) de lisis que interferirán con el rendimiento del ensayo. Evite la transferencia de residuos aspirando desde el tercio superior del(de los) tubo(s) de lisis. No cebe las puntas de las pipetas y no mezcle antes de aspirar. **Coloque las tapas permanentes proporcionadas en los tubos de reacción.**
   NOTA: La muestra lisada puede ser transferida desde el mismo tubo cluster un máximo de 3 veces.

8. Retire la(s) tira(s) de tubos del lector (o bloque térmico a 56 ± 2°C, si se usó uno) y mézclela(s) con vortex brevemente (alrededor de 2 segundos) a velocidad media/alta (2500 RPM). Verifique visualmente cada tubo de reacción para asegurarse de que no haya burbujas en el fondo o en el medio de la muestra. Un breve golpe de los tubos debería liberar cualquier burbuja desde la parte inferior o del medio hacia la parte superior. Luego, coloque en el lector sin demora. Cierre la tapa del lector. **NOTA**: El lector no proporcionará resultados precisos si la tapa está abierta. Mantenga la tapa cerrada en todo momento mientras el ensayo está en proceso. Puede ocurrir contaminación si no se colocan las tapas permanentes en los tubos de reacción y/o si se retiran las tapas permanentes.
9. Haga clic en **START** en el software ANSR para comenzar el ensayo de **18 minutos**.
10. Los resultados se mostrarán como positivos, negativos o inválidos una vez que el ensayo haya finalizado. Si el resultado es inválido, debe repetir la prueba. Se puede ejecutar una sola prueba comenzando en el paso 6. Alternativamente, comience nuevamente desde el paso 1 si la lisis del paso 6 ha estado a 80 ± 2°C durante más de 60 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El software ANSR indicará los resultados de la prueba como positivo o negativo para la presencia de *Listeria* spp. en la muestra enriquecida. Además, se puede ver la curva de fluorescencia en tiempo real, generada a partir del ensayo.

CONFIRMACIÓN

Las muestras que produzcan resultados positivos ANSR pueden ser confirmadas estriando el medio de enriquecimiento en un agar selectivo/diferencial para *Listeria*, continuando con la identificación de colonias presuntivas siguiendo métodos estándar [1,2].

Para ciertos tipos de muestra (p. ej., carnes procesadas, leche, queso, helado, lechuga y guacamole), puede ser necesario un enriquecimiento secundario del caldo antes del estriado para reducir la flora adicional. Transfiera 0.1 mL del medio de enriquecimiento primario a un tubo que contenga 10 mL del caldo de enriquecimiento para *Listeria* tamponado (BLEB) [2] o, en el caso de productos cárnicos, 10 mL de MOPS-BLEB. Incube el cultivo BLEB durante **26 ± 2 horas** a 35 ± 2°C, o el cultivo MOPS-BLEB durante **18–24 horas** a 35 ± 2°C. Luego, proceda con el estriado del agar selectivo/diferencial y su posterior identificación mediante métodos estándar.

DESECHO

Los medios de enriquecimiento y tubos de lisis usados se deben eliminar como residuos biológicos peligrosos. El método preferido para el tratamiento de residuos biológicos peligrosos es el autoclavado. Los artículos que **NO PUEDEN** autoclavarse, como los tubos de reacción y tapas, deben sumergirse en una solución fresca de cloro al 10% que se prepare diariamente. Consulte con el asesor de seguridad de su instalación para obtener instrucciones detalladas.

NO retire las tapas permanentes, por NINGUNA razón, de los tubos de reacción ANSR una vez que haya comenzado el ensayo, incluso cuando los deseche. Los tubos de reacción se pueden desechar como residuos no biopeligrosos. Se recomienda que se coloquen en un recipiente o bolsa de plástico sellable con cloro al 10% y se desechen inmediatamente para protegerlos contra la apertura accidental.

SERVICIO AL CLIENTE

Puede contactar los Servicios Técnicos y Asistencia al Cliente de NEOGEN usando la información de contacto en la parte posterior de este folleto. Entrenamiento para este producto, y para todos los kits de NEOGEN, está disponible.

INFORMACIÓN DE HOJAS DE SEGURIDAD (SDS) DISPONIBLE
Las Hojas de Seguridad (SDS) para este kit, y para todos los kits de NEOGEN, están disponibles en la página electrónica de NEOGEN neogen.com, o llamando a NEOGEN al +1 800.234.5333 o +1 517.372.9200.

TÉRMINOS Y CONDICIONES
Por favor visite neogen.com/terms-and-conditions/ para los términos y condiciones completos de NEOGEN.

GARANTÍA
NEOGEN Corporation no ofrece ningún tipo de garantía expresa o implícita, excepto que los materiales utilizados en la fabricación de los productos son de calidad estándar. Si cualquiera de sus materiales resulta defectuoso, NEOGEN proveerá un reemplazo del producto. El comprador asume toda la responsabilidad y riesgos resultantes por el uso de este producto. No hay ningún tipo de garantía de comerciabilidad de este producto o de la idoneidad de éste para cualquier propósito. NEOGEN no será responsable de ningún daño, incluyendo daños especiales o consecuenciales, o de gastos derivados directa o indirectamente del uso del producto.

Diagnóstico molecular para la detección de patógenos transmitidos por alimentos ANSR de NEOGEN – Licencia de uso limitado

SYTO® 82
El SYTO® 82 contenido dentro de este producto se proporciona bajo una licencia de propiedad intelectual de Life Technologies Corporation, Eugene, OR, y puede usarse para la detección y el análisis in vitro de (i) alimentos, piensos y bebidas, incluyendo nutracéuticos, (ii) ingredientes para alimentos, piensos y bebidas, (iii) muestras de procesos de preparación, distribución y entrega de alimentos, piensos y bebidas, y (iv) agua de cualquier fuente para el consumo humano, todo con el propósito de seguridad y control de calidad. El comprador no debe vender ni transferir este producto o sus componentes para ningún otro uso, incluyendo pero no limitado a: diagnósticos in vitro humanos, diagnósticos veterinarios, pruebas de identidad o paternidad humanas, técnicas forenses humanas o detección in vivo de secuencias de ácido nucleico en personas vivas, animales o células. Para obtener información sobre la compra de una licencia para SYTO® 82 para otros fines que no sean la seguridad y control de calidad de alimentos, bebidas y agua, contacte a Life Technologies Corporation en outlicensing@lifetech.com.

Sondas de balizas moleculares
Una o más de las sondas de balizas moleculares contenidas dentro de este producto se venden bajo licencia de PHRI Properties y pueden usarse bajo los derechos de patente de PHRI Properties solo para pruebas de productos alimenticios, piensos, bebidas y agua.

Tecnología NEAR™
Este producto utiliza la tecnología isotérmica patentada NEAR y se vende bajo licencia de Ionian Technologies, San Diego, CA, y puede utilizarse bajo los derechos de patente de Ionian Technologies solo para pruebas de seguridad de alimentos, bebidas y agua.

Referencias
[1] USDA-FSIS (2011) Microbiology Laboratory Guidebook, chapter 8.07
http://www.fsis.usda.gov/PDF/MLG_8_07.pdf
[2] USDA-FDA (2011) Bacteriological Analytical Manual, chapter 10
http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm071400.htm

PRODUCTOS DISPONIBLES

9465 **Esponjas de muestreo ambiental** (con caldo neutralizante Dey Engley (DE) – paquete de 100)

36002 **Esponjas de muestreo, pre humedecidas, HiCap** – paquete de 100

9822 **ANSR para *E. coli* O157:H7** – hasta 96 pruebas

9824 **ANSR para *Listeria monocytogenes*** – hasta 96 pruebas

9870 **ANSR para *Salmonella*** – hasta 96 pruebas

9871 **ANSR para *Listeria*** – hasta 96 pruebas

9872 **ANSR para *Campylobacter*** – hasta 96 pruebas

9873 **ANSR para *Listeria* Right Now™** – hasta 96 pruebas

9837 **Kit completo de equipo ANSR** – Lector, computadora, conjunto de pipetas, calentadores de baño seco y piezas, termómetros, vortex, cronómetro, gradilla

Norteamérica
Oficinas Corporativas de NEOGEN
+1 800.234.5333 (EEUU/Canadá)
foodsafety@neogen.com
NEOGEN.com

Europa, Medio Oriente y África
NEOGEN Europe
+ 44 (0) 1292 525 600
info_uk@neogeneurope.com
NEOGEN.com

México
NEOGEN Latinoamérica
+52 (55) 5254-8235
informacion@neogenlac.com
NEOGEN.com

Brasil
NEOGEN do Brasil
+55 19 3935.3727
info@neogendobrasil.com.br
NEOGEN.com

China
NEOGEN Bio-Scientific Technology
+86 21 6271 7013
info@neogenchina.com.cn
www.neogenchina.com.cn

India
NEOGEN Food and Animal Security
+91 484 2306598, 2301582
info@neogenindia.com
www.neogenindia.com

©NEOGEN Corporation, 2020. NEOGEN y ANSR son marcas registradas de NEOGEN Corporation. Todas las otras marcas y nombres de productos mencionados son marcas registradas o marcas de sus compañías respectivas. Patente: https://www.neogen.com/patents/