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.

Product 9870

Read instructions carefully before starting test

NEOGEN®

ANSR®

for *Salmonella*

PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 061203

INTENDED USE

The ANSR® for *Salmonella* method provides for rapid and accurate detection of *Salmonella* spp. in a wide variety of foods and environmental samples. Serovars belonging to both *Salmonella enterica* and *Salmonella bongori* can be detected with the ANSR method.

In an AOAC Research Institute Performance Tested℠ Method study, ANSR for *Salmonella* has been found to be an effective procedure for detection of *Salmonella* spp. in the following sample types: chicken carcass rinse, raw ground turkey, raw ground beef (10% fat), raw shrimp, hot dogs, oat cereal, soy flour, peanut butter, raw almonds, cocoa powder, ice cream, black pepper, pasteurized dried whole egg, pasteurized dried egg white, pasteurized liquid whole egg, pasteurized frozen egg yolk, raw spinach, dry dog food and sponge or swab samples from stainless steel, plastic, sealed concrete, ceramic tile and rubber surfaces. Inclusivity was 99.1% in testing of more than 100 serovars of *S. enterica* and *S. bongori,* with only a single strain of *S*. Weslaco testing negative.

The test is approved by the National Poultry Improvement Plan (NPIP) for testing of poultry house environment samples including boot swabs, drag swabs, chick papers, and fluff.

ASSAY PRINCIPLES

ANSR for *Salmonella* is an isothermal, amplified nucleic acid assay. The ANSR method is based on nicking enzyme amplification reaction (NEAR™) technology. Target nucleic acid 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 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 10 minutes. Positive results may be confirmed from the enrichment cultures following standard procedures. Each tube of ANSR reagents contains an internal positive control, ensuring the reagents are functioning properly.

INTENDED USER

The ANSR for *Salmonella* 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 in a rack, 1.2 mL
2. 12 strips of 8 reaction tubes, 200 µL, containing lyophilized ANSR for *Salmonella* reagents in 2 sealed foil pouches with desiccant pack
3. 12 strips of 8 permanent caps for reaction tubes
4. 1 bottle of 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 or equivalent)
2. Graduated cylinder, 250 mL (NEOGEN item 9368 or equivalent)

MEDIA ENRICHMENT BROTH REQUIRED

1. Novobiocin, sodium salt (NEOGEN item 7985 or equivalent)
2. Rappaport-Vassiliadis Broth (NEOGEN item 7512 or equivalent). For raw meat sample confirmation only.
3. Phosphate Buffered Saline (PBS) (NEOGEN item 8425 or equivalent)
4. Potassium iodide (sigma no. 221945 or equivalent)
5. Iodine (Sigma no. 207772 or equivalent)

ENRICHMENT BROTH REQUIRED (DEPENDENT ON SAMPLE TYPE AS DESCRIBED ON PAGES 4 AND 5)

1. ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 1 (NEOGEN item 9811)
2. ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 2 (NEOGEN item 9812)
3. ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 3 (NEOGEN item 9813)
4. ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 3B (NEOGEN item 9817)
5. Tetrathionate Broth Base, Hajna (TT Hajna) (NEOGEN item 7740A)

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, including biosafety level 2 procedures when handling pathogens such as *Salmonella.*
2. **Dispose of used pipette tips in a covered container containing a fresh solution of 10% bleach. The 10% bleach 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. Do not use reagents beyond the expiration date.
5. Enrichment media should be prewarmed to incubation temperature (all protocols) before use.
6. Use of enrichment media and incubation times or temperatures other than those specified may lead to erroneous results.
7. 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.
8. 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.
9. Exercise care in all pipetting steps to avoid cross-contamination of samples.
10. Complete all assay steps in sequence, avoiding delays between steps.
11. Tap reaction tubes on bench top to make sure lyophilized reagents are at the bottom of the tube prior to adding lysed sample.

NOTE: **IF TESTING USING COLONY PICKS, PROCEED TO PAGE 7 FOR TEST PROCEDURE.**

PREPARATION OF ENRICHMENT BROTH

NOTE: Use rehydrated media the same day as prepared. **Do not autoclave**.

ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 1

Rehydrate 42.1 g of ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 1 with 1 L sterile water prewarmed to 36 ± 1°C.

ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 2

Rehydrate 20 g of ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 2 with 1 L sterile water prewarmed to 42 ± 1°C.

ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 3

Rehydrate 42.1 g of ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 3 with 1 L sterile water prewarmed to 36 ± 1°C.

ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 3B

Rehydrate 39.2 g of ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 3B with 1 L sterile water prewarmed to 36 ± 1°C (or 42 ± 1°C for pet food).

TT Hajna

Follow manufacturer's instructions for media preparation.

SAMPLE ENRICHMENT

For processed meats and other processed foods with a moderate to high microbial load. Validated for: Hot dogs, raw almonds, peanut butter, black pepper and cocoa powder.

1. Weigh 25 g sample in a Stomacher-type bag.
2. Add 225 mL **ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 1** (NEOGEN item 9811) prewarmed to 36 ± 1°C to the bag. Homogenize (Stomacher or equivalent) the sample as appropriate for the sample type.
3. For all products except black pepper, incubate the culture at 36 ± 1°C for **16–24 hours**.
4. For black pepper, incubate the culture at 36 ± 1°C for **22–26 hours**.

For raw meat, poultry carcass rinses, raw leafy greens and flours

Validated for: raw ground turkey, raw ground beef, chicken carcass rinse, raw frozen shrimp, raw spinach and soy flour.

1. Weigh 25 g sample (or 30 mL poultry carcass rinse) in a Stomacher-type bag.
2. Add 225 mL **ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 2** (NEOGEN item 9812) prewarmed to 42 ± 1°C to the bag. For 325 g samples, weigh 325 g sample in a filter-lined Stomacher-type bag, and add 1.3 L ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 2 prewarmed to 42 ± 1°C to the bag. Homogenize (Stomacher or equivalent) the sample as appropriate for the sample type.
3. For 25 g ground beef, incubate the culture at 42 ± 1°C for **10–24 hours**. For 325 g ground beef and other raw meat samples and poultry carcass rinses, incubate the culture at 42 ± 1°C for **12–24 hours**. For spinach and raw frozen shrimp, incubate the culture at 42 ± 1°C for **16–24 hours**. For soy flour, incubate the culture at 36 ± 1°C for **16–24 hours**.

For processed foods with a low microbial load
Validated for: oat cereal and ice cream.

1. Weigh 25 g sample in a Stomacher-type bag.
2. Add 225 mL **ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 3** (NEOGEN item 9813) 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**.

For environmental samples
Validated for: stainless steel, plastic, sealed concrete, ceramic tile and rubber.

1. Place the sponge or swab sample in a Stomacher-type bag or tube.
2. Add an appropriate amount of **ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 3** (NEOGEN item 9813) prewarmed to 36 ± 1°C. For sponge samples, an appropriate amount typically is 100–200 mL. For swab samples, it typically is 10 mL. For samples containing high levels of background flora, add novobiocin to a final concentration of 10 mg/L.
3. Incubate the culture at 36 ± 1°C for **16–24 hours**.

NOTE: Testing of certain foods may require a different sample size (e.g., 100 g, 325 g or 375 g). Generally, for these larger sample sizes, a 4:1 ratio of enrichment medium to sample may be used, unless contraindicated by problems with color, viscosity, etc. Contact NEOGEN for more information.

For dry pet food

1. For 375 g composite samples, weigh 375 g sample in a filter-lined Stomacher-type bag, and add 3.375 L ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 3B prewarmed to 42 ± 1°C to the bag.
2. Homogenize (Stomacher or equivalent) the sample as appropriate for the sample type.
3. Incubate the culture at 42 ± 1°C for **16–24 hours**.

For pasteurized egg products
Validated for: pasteurized dried whole egg, pasteurized dried egg white, pasteurized liquid whole egg and pasteurized frozen egg yolk.

1. Weigh 100 g sample in a Stomacher-type bag.
2. Add 900 mL **ANSR for *Salmonella* Enrichment Broth 3B** (NEOGEN item 9817) prewarmed to 36 ± 1°C to the bag.
3. Homogenize (Stomacher or equivalent) the sample as appropriate for the sample type.
4. Incubate the culture at 36 ± 1°C for **24–26 hours**. **NOTE**: For pasteurized dried whole egg, incubate for **26 hours**.

For poultry house environmental samples
NOTE: Not part of AOAC Performance Tested Method

1. Place environmental sample into a stomacher-type bag.
2. Aseptically add 100 mL of TT Hajna (prepared earlier) to a Stomacher-type bag containing the environmental sample. Shake bag vigorously in a side-to-side motion at least 10 times to mix.
3. Incubate the sample(s) at 37 ± 1°C for 24 ± 2 hours.
4. Before testing in the ANSR assay, dilute a portion of the enrichment culture 1:10 in PBS or a similar buffer.

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 be set out for 15 minutes prior to use to get to room temperature.
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: Enrichment cultures that are highly turbid or highly colored may require a 1:10 dilution in PBS prior to lysing the sample. Examples include peanut butter, black pepper, flours, dry pet food and dried pasteurized egg products. Cocoa powder requires a 1:50 dilution in PBS prior to sample lysis. Contact NEOGEN Technical Services for more information.

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

1. Add 50 µL enrichment culture (or dilution) to a 1.2 mL cluster tube(s) using 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 **10 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.

PROCEED TO PAGE 8 FOR INTERPRETATION OF RESULTS.

CONFIRMATION

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

For raw meat and other samples with a high microbial load

1. Transfer 0.1 mL enrichment culture to 10 mL Rappaport-Vassiliadis (RV) Broth (NEOGEN item 7512) and incubate for **22–26 hours** at 42 ± 0.5°C.
2. Streak RV culture to selective/differential agar plates.

FOR USE AS A CONFIRMATION TEST FROM COLONY PICKS (AOAC Official Method 2013.14)

ANSR for *Salmonella* can be used to determine if a presumptive colony on selective/differential or non-selective agar media is *Salmonella* spp. Colonies picked from the following media types have been tested and found to produce accurate results: Hektoen enteric agar, xylose lysine deoxycholate agar, bismuth sulfite agar, brilliant green sulfa agar, xylose lysine tergitol agar (XLT4), double-modified lysine iron agar and tryptic soy agar.

Procedure

Pick a colony with an inoculating loop or needle and resuspend the colony in 0.5 mL sterile PBS. Vortex or otherwise mix to ensure the colony is completely resuspended. Proceed with the **ANSR Test Procedure**, followed by the **Colony Picks Assay Procedure** using 50 µL of the PBS resuspension as sample. A positive test result indicates *Salmonella* spp. A negative test result indicates "not *Salmonella* spp."

References

1. US Food and Drug Administration (May 2014). Chapter 5. *Salmonella* in *Bacteriological Analytical Manual*: Retrieved from http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm070149.htm
2. United States Department of Agriculture Food Safety Inspection Service. (January, 2011). Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg and catfish products in *Microbiology Laboratory Guidebook* (4.05): Retrieved from http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/700c05fe-06a2-492a-a6e1-3357f7701f52/MLG-4.pdf?MOD=AJPERES

COLONY PICKS ASSAY PROCEDURE

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 colony resuspension to a 1.2 mL cluster tube(s) using 100 µL filtered tips.
   NOTE: Cluster tubes may be pulled apart to provide the number of tubes needed.
2. Add 450 µL lysis reagent buffer to each of the cluster tube(s) containing sample. **NOTE**: The colony assay procedure only has one lysis step at 80 ± 2°C. There is no 37 ± 2°C step needed.
3. 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.
4. **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.
5. 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.**
6. Using an 8-channel pipette and 100 µL filtered 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.
7. 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.
8. Click **START** in the ANSR software to begin the **10 minute** assay.
9. 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 5. Alternatively, start over from step 1 if lysis 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 *Salmonella* spp. in the enriched sample. In addition, the real-time fluorescence curve generated from the assay can be viewed.

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.

NeoSeek™
NEOGEN's NeoSeek program provides pathogen detection and identification technology that provides next day, DNA-specific test results for certain pathogenic bacterial strains. Contact NEOGEN for more information.

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 i*n 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.

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 and NeoSeek is a trademark of NEOGEN Corporation. All other brand and product names are trademarks or registered trademarks of their respective companies.

Patent: https://www.neogen.com/patents/ .
16744J 9870_ANSR-Salmonella

Producto 9870

Por favor lea las instrucciones cuidadosamente antes de realizar la prueba

NEOGEN® ANSR®

para *Salmonella*

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 061203

USO PREVISTO

El método ANSR para *Salmonella* proporciona una detección rápida y precisa de *Salmonella* spp. en una amplia variedad de muestras ambientales y de alimentos. Los serotipos pertenecientes a *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* pueden ser detectados con el método ANSR.

En un estudio Performance Tested Method℠ realizado por el Instituto de Investigación de la AOAC, se encontró que ANSR para *Salmonella* es un procedimiento efectivo para la detección de *Salmonella* spp. en los siguientes tipos de muestras: enjuague de canal de pollo, pavo molido crudo, carne molida cruda (10% de grasa), camarón crudo, perros calientes, cereal de avena, harina de soya, mantequilla de maní, almendras crudas, cacao en polvo, helado, pimienta negra, huevo entero pasteurizado en polvo, clara de huevo pasteurizada en polvo, huevo entero líquido pasteurizado, yema de huevo pasteurizada congelada, espinaca cruda, alimento seco para mascotas, y esponjas o hisopos con muestras de acero inoxidable, plástico, hormigón sellado, baldosas de cerámica y superficies de caucho. La inclusividad fue del 99.1% en las pruebas de más de 100 serotipos de *S. enterica* y *S. bongori,* con solo una cepa de *S. Weslaco* dando un resultado negativo.

La prueba está aprobada por el Plan Nacional de Mejoramiento Avícola (NPIP) para el análisis de muestras ambientales de gallineros, incluyendo hisopos de botas, hisopos de arrastre, papeles de pollos y pelusa.

FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS

ANSR para *Salmonella* es un ensayo de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos. El método se basa en la tecnología de reacción de amplificación de endonucleasas (NEAR™). El ácido nucleico 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 10 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 *Salmonella* 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 en una gradilla, 1.2 mL
2. 12 tiras de 8 tubos de reacción, 200 µL, que contienen reactivos liofilizados ANSR para *Salmonella* 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-) **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 o equivalente)
2. Cilindro graduado, 250 mL (producto NEOGEN 9368 o equivalente)

CALDOS DE ENRIQUECIMIENTO DE MEDIOS REQUERIDOS

1. Novobiocina, sal de sodio (producto NEOGEN 7985 o equivalente)
2. Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) (producto NEOGEN 7512 o equivalente). Solo para la confirmación de muestras de carnes crudas.
3. Buffer fosfato salino (PBS) (producto NEOGEN 8425 o equivalente)
4. Yoduro de potasio (producto Sigma-Aldrich 221945 o equivalente)
5. Yodo (producto Sigma-Aldrich 207772 o equivalente)

CALDOS DE ENRIQUECIMIENTO REQUERIDOS (DEPENDIENDO DEL TIPO DE MUESTRA SEGÚN SE DESCRIBE EN LAS PÁGINAS 16 Y 17)

1. Caldo de enriquecimiento 1 ANSR para *Salmonella* (producto NEOGEN 9811)
2. Caldo de enriquecimiento 2 ANSR para *Salmonella* (producto NEOGEN 9812)
3. Caldo de enriquecimiento 3 ANSR para *Salmonella* (producto NEOGEN 9813)
4. Caldo de enriquecimiento 3B ANSR para *Salmonella* (producto NEOGEN 9817)
5. Base de caldo de tetrationato Hajna (TT Hajna) (producto NEOGEN 7740A)

ALMACENAMIENTO

Almacene los reactivos ANSR entre 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. No utilice los reactivos luego de su fecha de expiración.
5. Los medios de enriquecimiento deben pre-calentarse a la temperatura de incubación (todos los protocolos) antes de uso.
6. El uso de medios de enriquecimiento y tiempos de incubación o temperaturas diferentes a las especificadas pueden dar lugar a resultados erróneos.
7. 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.
8. **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.
9. Tenga cuidado en todos los pasos de pipeteo para evitar la contaminación cruzada de las muestras.

10. Complete todos los pasos del ensayo en secuencia, evitando retrasos entre los pasos.
11. 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.

NOTA: SI SE REALIZA UNA PRUEBA CON COLONIAS SELECCIONADAS, VAYA A LA PÁGINA 17 PARA EL PROCEDIMIENTO DE PRUEBA.

PREPARACIÓN DEL CALDO DE ENRIQUECIMIENTO

NOTA: Utilice los medios rehidratados el mismo día que los preparó. **No autoclave**.

Caldo de enriquecimiento 1 ANSR para *Salmonella*

Rehidrate 42.1 g de caldo de enriquecimiento 1 ANSR para *Salmonella* con 1 L de agua estéril precalentada a 36 ± 1°C.

Caldo de enriquecimiento 2 ANSR para *Salmonella*

Rehidrate 20 g de caldo de enriquecimiento 2 ANSR para *Salmonella* con 1 L de agua estéril precalentada a 42 ± 1°C.

Caldo de enriquecimiento 3 ANSR para *Salmonella*

Rehidrate 42.1 g de caldo de enriquecimiento 3 ANSR para *Salmonella* con 1 L de agua estéril precalentada a 36 ± 1°C.

Caldo de enriquecimiento 3B ANSR para *Salmonella*

Rehidrate 39.2 g de caldo de enriquecimiento 3B ANSR para *Salmonella* con 1 L de agua estéril precalentada a 36 ± 1°C (o a 42 ± 1°C para alimento para mascotas).

TT Hajna

Siga las instrucciones del fabricante para la preparación del medio.

ENRIQUECIMIENTO DE MUESTRAS

Para carnes procesadas y otros alimentos procesados con una carga microbiana de moderada a alta. Validado para: perros calientes, almendras crudas, mantequilla de maní, pimienta negra, cacao en polvo.

1. Pese 25 g de muestra en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada a la bolsa 225 mL del **caldo de enriquecimiento 1 ANSR para *Salmonella*** (producto NEOGEN 9811) precalentado a 36 ± 1°C. Homogeneice (Stomacher, etc.) la muestra según corresponda para el tipo de muestra.
3. Para todos los productos, excepto la pimienta negra, incube el cultivo a 36 ± 1°C durante **16–24 horas**.
4. Para la pimienta negra, incube el cultivo a 36 ± 1°C durante **22–26 horas**.

Para carnes crudas, enjuagues de canales de pollo, verduras de hojas verdes crudas y harinas. Validado para: pavo molido crudo, carne molida cruda, enjuagues de canales de pollo, camarón crudo congelado, espinaca cruda y harina de soya.

1. Pese 25 g de muestra (o 30 mL de enjuague de canales de pollo) en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada a la bolsa 225 mL del **caldo de enriquecimiento 2 ANSR para *Salmonella*** (producto NEOGEN 9812) precalentado a 42 ± 1°C. Para muestras de 325 g, pese 325 g de muestra en una bolsa tipo Stomacher con filtro interno y añada a la bolsa 1.3 L del caldo de enriquecimiento 2 ANSR para *Salmonella* precalentado a 42 ± 1°C. Homogeneice (Stomacher, etc.) la muestra según corresponda para el tipo de muestra.

3. Para 25 g de carne molida, incube el cultivo a 42 ± 1°C durante **10–24 horas**. Para 325 g de carne molida y otros tipos de carnes crudas y enjuagues de canales de pollo, incube el cultivo a 42 ± 1°C durante **12–24 horas**. Para espinaca y camarón crudo, incube el cultivo a 42 ± 1°C durante **16–24 horas**. Para espinaca y camarón crudo congelado, incube el cultivo a 42 ± 1°C por **16–24 horas.** Para harina de soya, incube el cultivo a 36 ± 1°C durante **16–24 horas**.

Para alimentos procesados con un baja carga microbiana. Validado para: cereal de avena y helado.

1. Pese 25 g de muestra en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada a la bolsa 225 mL del **caldo de enriquecimiento 3 ANSR para *Salmonella*** (producto NEOGEN 9813) 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 muestras ambientales. Validado para: acero inoxidable, plástico, hormigón sellado, baldosas de cerámica y caucho.

1. Coloque la esponja o el hisopo con muestra dentro de una bolsa tipo Stomacher o en un tubo.
2. Añada una cantidad apropiada del **caldo de enriquecimiento 3 ANSR para *Salmonella*** (producto NEOGEN 9813) precalentado a 36 ± 1°C. Para muestras en esponjas, la cantidad apropiada típicamente es 100–200 mL. Para muestras en hisopos, típicamente es 10 mL. Para muestras que contienen altos niveles de flora adicional, añada novobiocina para una concentración final de 10 mg/L.
3. Incube el cultivo a 36 ± 1°C durante **16–24 horas**.

NOTA: Las pruebas de ciertos alimentos pueden requerir un tamaño de muestra diferente (p. ej., 100 g, 325 g o 375 g). Generalmente, para estos tamaños más grandes, se puede usar una relación 4:1 de medio de enriquecimiento a muestra, a menos que esté contraindicado por problemas de color, viscosidad, etc. Comuníquese con NEOGEN para más información.

Para alimento seco para mascotas

1. Para 375 g de muestras mezcladas, pese 375 g de muestra en una bolsa tipo Stomacher con filtro interno y añada a la bolsa 3.375 L del **caldo de enriquecimiento 3B ANSR para *Salmonella*** precalentado a 42 ± 1°C.
2. Homogeneice (Stomacher, etc.) la muestra según corresponda para el tipo de muestra.
3. Incube el cultivo a 42 ± 1°C durante **16–24 horas**.

Para productos de huevo pasteurizado

Validado para: huevo entero pasteurizado en polvo, clara de huevo pasteurizada en polvo, huevo entero líquido pasteurizado y yema de huevo pasteurizada congelada.

1. Pese 100 g de muestra en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada a la bolsa 900 mL del **caldo de enriquecimiento 3B ANSR para *Salmonella*** (producto NEOGEN 9817) precalentado a 36 ± 1°C.
3. Homogeneice (Stomacher, etc.) la muestra según corresponda para el tipo de muestra.
4. Incube el cultivo a 36 ± 1°C durante **24–26 horas**. **NOTA:** Para huevo entero pasteurizado en polvo, incube durante **26 horas**.

Para muestras ambientales de gallineros

NOTA: No forma parte del Performance Tested Method de la AOAC

1. Coloque la muestra ambiental en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada asépticamente a la bolsa tipo Stomacher que contiene la muestra ambiental 100 mL de TT Hajna (preparado anteriormente). Mezcle agitando vigorosamente con movimientos de lado a lado al menos 10 veces.
3. Incube la(s) muestra(s) a 37 ± 1ºC durante **24** ± **2 horas**.
4. Antes de la prueba con el ensayo ANSR, diluya una porción del medio de enriquecimiento 1:10 en PBS o un buffer similar.

PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN DE REACTIVO DE LISIS

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

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: Los medios de enriquecimiento que son altamente turbios o muy coloreados pueden requerir una dilución 1:10 en PBS antes de lisar la muestra. Los ejemplos incluyen mantequilla de maní, pimienta negra, harinas, alimentos secos para mascotas y productos de huevo pasteurizado en polvo. El cacao en polvo requiere una dilución 1:50 en PBS antes de lisar la muestra. Comuníquese con los servicios técnicos de NEOGEN para obtener más información.

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 (o dilución) a un(os) tubo(s) cluster de 1.2 mL usando puntas con filtro de 100 µL.

   NOTA: Los tubos cluster pueden ser separados para proporcionar el número de tubos necesarios.

2. Añada 450 µL de solución del reactivo de lisis a cada tubo cluster que contenga cultivo. Asegúrese de cambiar las puntas de 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 50 µL del tercio superior de la(s) muestra(s) lisada(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 **10 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 nueva 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.

VAYA A LA PÁGINA 18 PARA LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

Para carne cruda y otras muestras con alta carga microbiana

1. Transfiera 0.1 mL de medio de enriquecimiento a 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) (producto NEOGEN 7512) e incube a 42 ± 0.5°C durante **22–26 horas**.
2. Estrie el cultivo RV en placas con agar selectivo/diferencial.

PARA USO COMO PRUEBA DE CONFIRMACIÓN PARA COLONIAS SELECCIONADAS (Método oficial de la AOAC 2013.14)
ANSR para *Salmonella* se puede usar para determinar si una colonia presuntiva en medios con agar con selectivo/diferencial o no selectivo es *Salmonella* spp. Las colonias seleccionadas a partir de los siguientes tipos de medio han sido probadas y se ha encontrado que producen resultados precisos: agar entérico Hektoen, agar xilosa lisina desoxicolato, agar bismuto sulfito, agar verde brillante con sulfa, agar xilosa lisina Tergitol (XLT4), agar lisina hierro doblemente modificado y agar de soya tríptico.

Procedimiento
Elija una colonia con un asa o aguja de inoculación y resuspenda la colonia en 0.5 mL de PBS estéril. Agite en vortex o mezcle para asegurar que la colonia esté completamente resuspendida. Continúe con el **procedimiento de prueba ANSR**, seguido por el **procedimiento de ensayo de colonias seleccionadas** usando 50 µL de la resuspensión de PBS como muestra. Un resultado de prueba positivo indica *Salmonella* spp. Un resultado de prueba negativo indica "no *Salmonella* spp.".

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO PARA COLONIAS SELECCIONADAS
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 de la resuspensión de colonias a un(os) tubo(s) cluster de 1.2 mL usando puntas con filtro de 100 µL.
   NOTA: Los tubos cluster pueden ser separados para proporcionar el número de tubos necesarios.
2. Añada 450 µL del buffer reactivo de lisis a cada uno de el(los) tubo(s) cluster que contenga(n) muestra. **NOTA**: El procedimiento de ensayo de colonias solo tiene un paso de lisis a 80 ± 2°C. No es necesario un paso de lisis a 37 ± 2°C.
3. 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.
4. 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.

5. 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.**
6. Usando una pipeta de 8 canales y puntas con filtro de 100 µL, transfiera cuidadosamente 50 µL del tercio superior de la(s) muestra(s) lisada(s) en los tubos cluster a los tubos de reacción. **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.
7. 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.
8. Haga clic en **START** en el software ANSR para comenzar el ensayo de **10 minutos**.
9. 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 nueva prueba comenzando en el paso 5. 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 *Salmonella* spp. en la muestra enriquecida. Además, se puede ver la curva de fluorescencia en tiempo real, generada a partir del ensayo.

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.

NeoSeek™
El programa NeoSeek de NEOGEN proporciona una tecnología de detección e identificación de patógenos que brinda resultados de pruebas específicas de ADN al día siguiente para ciertas cepas bacterianas patógenas. Contacte a NEOGEN para más información.

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. US Food and Drug Administration (November, 2011). Chapter 5. *Salmonella* in *Bacteriological Analytical Manual*: Retrieved from \http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm070149.htm
2. United States Department of Agriculture Food Safety Inspection Service. (January, 2011). Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg and catfish products in *Microbiology Laboratory Guidebook* (4.05): Retrieved from http://www.fsis.usda.gov/PDF/MLG_4_05.pdf



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 o marcas registradas de sus compañías respectivas.
Patente: https://www.neogen.com/patents/

16744J 9870_ANSR-Salmonella