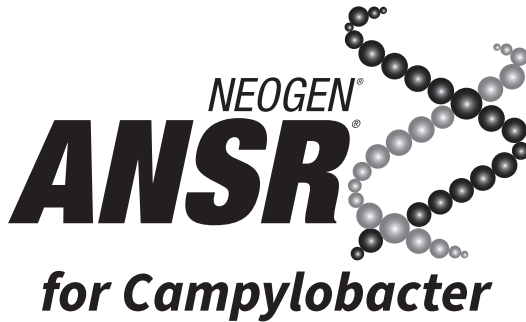


*Read the instructions carefully before starting the test.*



**NEOGEN<sup>®</sup>**  
**ANSR<sup>®</sup>**  
**for *Campylobacter***



**INTENDED USE**

ANSR<sup>®</sup> for *Campylobacter* has been found to be an effective procedure for detection of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, and *C. lari* in poultry rinse samples and carcass swabs.

**ASSAY PRINCIPLES**

ANSR for *Campylobacter* is an isothermal, amplified nucleic acid assay. The ANSR for *Campylobacter* 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  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  for 10 minutes, then at  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  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  $56 \pm 2^\circ\text{C}$  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<sup>®</sup> for *Campylobacter* 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<sup>®</sup>.

## MATERIALS PROVIDED

1. 12 strips of 8 cluster tubes, 1.2 mL
2. 12 strips of 8 reaction tubes, 200  $\mu$ L, containing lyophilized ANSR for *Campylobacter* reagents in 2 sealed foil pouches with desiccant pack
3. 12 strips of 8 permanent caps for the 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 the ANSR reader (NEOGEN item 9832)
3. 1 dual heater block with aluminum block inserts for 1.2 mL cluster tubes,  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  and  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  (NEOGEN items 9836-DUAL48, 9829-48) or 2 single heater blocks with aluminum block inserts for 1.2 mL cluster tubes,  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  and  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  (NEOGEN items 9836-48D, 9829-48)
4. Pipettor, 100–1000  $\mu$ L (NEOGEN item 9463)
5. Pipette tip rack, 100–1000  $\mu$ L, sterile, 96 tips (NEOGEN item 9487)
6. Pipettor, 10–100  $\mu$ L, 8-channel (NEOGEN item 9388)
7. Pipette tips, 100  $\mu$ L, sterile, filtered, 96 tips (NEOGEN item 9389)
8. Vortex mixer, adjustable speed (NEOGEN item 9494)
9. 3 thermometers, traceable (NEOGEN item 9518)
10. Timer, 3-channel (NEOGEN item 9426)
11. Optional-for-use heater block with 0.2 mL reaction tube aluminum block insert,  $56 \pm 2^\circ\text{C}$  (NEOGEN items 9836-48D, 9829-48)
12. Stomacher (optional)
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. Flat bottomed 4 oz. Whirl-Pak<sup>®</sup> sampling bag (NEOGEN Item 9508)
3. Graduated cylinder, 250 mL (NEOGEN item 9368)

## MEDIA ENRICHMENT BROTH REQUIRED

1. ANSR for *Campylobacter* Enrichment Broth (NEOGEN Item 9818)
2. Buffered Peptone Water (NEOGEN Item 7418A or equivalent)
3. 1 L purified water
4. Phosphate Buffered Saline (PBS) (NEOGEN item 8425)

## STORAGE

Store the 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% 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 pre-warmed to the 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 the 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 the lyophilized reagents are at the bottom of the tube prior to adding lysed sample.

## PREPARATION OF ENRICHMENT BROTH (2X STRENGTH)

Dissolve 56 g of the medium into 1 L of purified water prewarmed to  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ . Use the rehydrated media the same day as prepared. Do not autoclave.

## SAMPLE ENRICHMENT

### Poultry rinse

1. Weigh out 30 mL of sample in a 4 oz. Whirl-Pak® bag.
2. Add 30 mL 2x ANSR for *Campylobacter* Enrichment Broth prewarmed to  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  to the bag. Swirl briefly to mix.  
Note: Attempt to minimize airspace in the bag as well as exposure to oxygen with gentle, brief mixing.
3. Incubate the culture under aerobic or microaerophilic conditions at  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  for 20–24 hours.

### Carcass sponge

1. Place the sponge in a Stomacher-type bag.
2. Add 25 mL of sterile Buffered Peptone Water and 25 mL of 2x ANSR for *Campylobacter* Enrichment Broth to the bag.
3. Grasp the bag tightly at top and shake the bag vigorously using a side-to-side motion or squeeze the sponge several times to ensure complete mixing.
4. Incubate the culture under aerobic or microaerophilic conditions at  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  for 20–24 hours.

## LYSIS REAGENT SOLUTION PREPARATION

Reconstitute 1 vial of the lyophilized lysis reagents with 18 mL of the lysis reagent suspension buffer by adding the buffer to the reagent vial. Swirl gently to mix.

Note: 1 vial of the 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

Before starting the assay:

1. Preheat one lysis heater block to  $80 \pm 2^\circ\text{C}$ . Preheat the second lysis heater block to  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ . If using the optional single heater, preheat to  $56 \pm 2^\circ\text{C}$ . 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 the reaction tubes in the foil pouch until they are needed.  
Note: Keep the lysis reagent solution in the refrigerator until ready to 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  $56 \pm 2^\circ\text{C}$ .
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: Mix enriched samples well before beginning assay procedure. Enrichment cultures that are highly turbid or highly colored may require a 1:10 dilution in PBS before lysing the sample. Contact NEOGEN Technical Services for more information. The AOAC approved matrices do not require dilution.

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  $\mu\text{L}$  of enrichment culture (or dilution) to each 1.2 mL cluster tube using a pipettor with 100  $\mu\text{L}$  filtered tips.  
Note: Cluster tubes may be pulled apart to provide the number of tubes needed.
2. Add 450  $\mu\text{L}$  of the lysis reagent solution to each cluster tube containing culture. Be sure to switch the pipette tips between samples.  
Note: Return the lysis reagent solution to the refrigerator after use (within 1 hour).
3. Incubate each cluster tube(s) at  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  for 10 minutes.
4. Immediately transfer the cluster tube to the  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  heater block and incubate for 20 minutes.  
Note: The  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  incubation time may be extended to a total of 60 minutes for the purpose of managing staggered assay start times.
5. For 3–5 minutes before the end of the lysis step, preheat the ANSR reagents to  $56 \pm 2^\circ\text{C}$  by placing the reaction tubes in the ANSR reader. Optional: A separate heat block can be used. It should be heated to  $56 \pm 2^\circ\text{C}$ .  
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 each reaction tube 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 each reaction tube 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.

- Using an 8-channel pipette and 100  $\mu$ L filter tips, carefully transfer 50  $\mu$ L from the top third of each lysed sample in the cluster tube to each reaction tube. Debris may accumulate at the bottom of each lysis tube. This will interfere with the assay performance. Avoid transferring 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: The lysed sample may be transferred from the same cluster tube a maximum of 3 times.

- Remove the strips(s) of tubes from the reader (or  $56 \pm 2^\circ\text{C}$  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, or if the permanent caps are removed.

- Click start in the ANSR software to begin the 18 minute assay.
- 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  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  for more than 60 minutes.

## INTERPRETATION OF RESULTS

The ANSR software will indicate the test results as positive or negative for the presence of *Campylobacter* 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 Campy-Cefex agar media and continuing with identification of presumptive colonies following standard methods [1].

## 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 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.

**References**

[1] USDA-FSIS (2015) Microbiology Laboratory Guidebook, chapter 41.04  
<http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/0273bc3d-2363-45b3-befb-1190c25f3c8b/MLG-41.pdf?MOD=AJPERES>

**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](mailto: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, timer, rack



### North America

#### NEOGEN Headquarters

800.234.5333 (U.S./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



*Lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba*



**NEOGEN<sup>®</sup>**  
**ANSR<sup>®</sup>**  
**para *Campylobacter***



**USO PREVISTO**

Se ha encontrado que ANSR<sup>®</sup> para *Campylobacter* es un procedimiento efectivo para la detección de *Campylobacter jejuni*, *C. coli* y *C. lari* en muestras de enjuague de aves e hisopos de canales.

**FUNDAMENTO DEL ANÁLISIS**

ANSR para *Campylobacter* es un ensayo de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos. El método de ANSR para *Campylobacter* se basa en la tecnología de reacción de amplificación de endonucleasas (NEAR<sup>™</sup>) 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  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 10 minutos y luego a  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  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  $56 \pm 2^\circ\text{C}$  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 *Campylobacter* 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 *Campylobacter* 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,  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  y  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  (productos NEOGEN 9836-DUAL48, 9829-48) **O** dos bloques térmicos individuales con piezas de aluminio para tubos de 1.2 mL,  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  y  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  (productos NEOGEN 9836-48D, 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. 3 termómetros, rastreables (producto NEOGEN 9518)
10. Cronómetro, 3 canales (producto NEOGEN 9426)
11. Bloque térmico opcional con pieza de aluminio para tubos de reacción de 0.2 mL,  $56 \pm 2^\circ\text{C}$  (productos NEOGEN 9836-48D, 9829-48)
12. Stomacher (opcional)
13. Webcam (producto NEOGEN WEBCAM)
14. Cable de Ethernet ANSR (producto NEOGEN 9835)
15. Bomba para pipeta, 10 mL (producto NEOGEN 9277)
16. Pipetas serológicas, estériles (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. Bolsa de muestreo Whirl-Pak<sup>®</sup> con fondo plano de 4 oz. (producto NEOGEN 9508)
3. Cilindro graduado, 250 mL (producto NEOGEN 9368)

## CALDOS DE ENRIQUECIMIENTO REQUERIDOS

1. Caldo de enriquecimiento ANSR para *Campylobacter* (producto NEOGEN 9818)
2. Agua de peptona tamponada (producto NEOGEN 7418A o equivalente)
3. 1 L de agua purificada
4. Buffer fosfato salino (producto NEOGEN 8425)

## 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.

## PREPARACIÓN DEL CALDO DE ENRIQUECIMIENTO (2X INTENSIDAD)

Disuelva 56 g del medio en 1 L de agua purificada precalentada a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ . Use el medio rehidratado el mismo día en el que fue preparado. No autoclave.

## ENRIQUECIMIENTO DE LA MUESTRA

### Enjuague de aves

1. Pese 30 mL de muestra en una bolsa Whirl-Pak® de 4 oz.
2. Añada a la bolsa 30 mL del caldo de enriquecimiento ANSR para *Campylobacter* 2X, precalentado a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ . Agite brevemente para mezclar.  
Nota: Intente minimizar el espacio aéreo en la bolsa y la exposición al oxígeno, mezclando breve y suavemente.
3. Incube el cultivo bajo condiciones aeróbicas o microaerófilas a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 20 a 24 horas.

### Esponja de canal

1. Coloque la esponja en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada 25 mL de agua de peptona tamponada estéril y 25 mL del caldo de enriquecimiento ANSR para *Campylobacter* 2X a la bolsa.
3. Agarre la bolsa con fuerza en la parte superior y agite vigorosamente, utilizando un movimiento de lado a lado o exprima la esponja varias veces para asegurar una mezcla completa.

4. Incube el cultivo bajo condiciones aeróbicas o microaerófilas a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 20 a 24 horas.

### PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DEL 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  $2-8^\circ\text{C}$  durante un máximo de 30 días.

### PROCEDIMIENTO DE PRUEBA ANSR

Antes de iniciar el ensayo:

1. Precaliente un bloque térmico de lisis a  $80 \pm 2^\circ\text{C}$ . Precaliente el segundo bloque térmico de lisis a  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ . Si usa el bloque térmico individual, precaliente a  $56 \pm 2^\circ\text{C}$ . 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: Mantenga la solución de reactivos de lisis en el refrigerador hasta que esté lista para su uso.
3. Conecte el lector ANSR a la computadora a través de un USB o cable ethernet y enciéndala.
4. Encienda el lector ANSR. El lector se precalentará a  $56 \pm 2^\circ\text{C}$ .
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.

### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

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

#### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Nota: Mezcle bien la muestra enriquecida antes de comenzar el procedimiento de ensayo. Los cultivos de enriquecimiento que son altamente turbios o muy coloreados pueden requerir una dilución de 1:10 en buffer fosfato salino (PBS) antes de lisar la muestra. Comuníquese con los Servicios Técnicos de NEOGEN para más información. Las matrices aprobadas por AOAC no requieren dilución.

**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  $\mu\text{L}$  del cultivo de enriquecimiento (o dilución) a un(os) tubo(s) cluster de 1.2 mL usando un pipeteador con puntas con filtros de 100  $\mu\text{L}$ . Nota: Los tubos cluster pueden ser separados para proporcionar el número de tubos necesarios.
2. Añada 450  $\mu\text{L}$  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  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 10 minutos.
4. Transfiera inmediatamente los tubos cluster al bloque térmico a  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  e incube durante 20 minutos. NOTA: El tiempo de incubación de  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  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  $56 \pm 2^\circ\text{C}$  colocando los tubos de reacción en el lector ANSR. Opcional: Se puede usar un bloque térmico separado. Se debe calentar a  $56 \pm 2^\circ\text{C}$ .  
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  $\mu\text{L}$ , transfiera cuidadosamente 50  $\mu\text{L}$  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  $56 \pm 2^\circ\text{C}$ , 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  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  durante más de 60 minutos.

## CONFIRMACIÓN

Las muestras que produzcan resultados positivos ANSR pueden ser confirmadas estriando el medio de enriquecimiento en agar Campy-Cefex, continuando con la identificación de colonias presuntivas siguiendo métodos estándar [1].

## 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](http://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/](http://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.

### **Referencias**

[1] USDA-FSIS (2015) Microbiology Laboratory Guidebook, chapter 41.04  
<http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/0273bc3d-2363-45b3-befb-1190c25f3c8b/MLG-41.pdf?MOD=AJPERES>

## **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](mailto: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.

## 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