

Read instructions carefully before starting test



INTENDED USE

The ANSR[®] *Listeria* Right Now™ assay is intended to be used as a fast and easy screening procedure for the detection of *Listeria* spp. on visibly clean surfaces post-cleaning/pre-production without the need for enrichment. This environmental test can be used on stainless steel, sealed concrete, ceramic tile, rubber and plastic. It has been validated by the AOAC for stainless steel, sealed concrete, ceramic tile, rubber and plastic surfaces. It is not designed for soiled samples or food matrices testing.

ASSAY PRINCIPLES

ANSR *Listeria* Right Now is an isothermal, amplified nucleic acid assay. The 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.

Listeria Right Now is a novel test for the detection of *Listeria* spp. from environmental surfaces without enrichment. The entire collected contents of the swab are subjected to sample processing. After expression of the swab in the lysis buffer, a 2-stage lysis reaction is performed, first at 37 ± 2°C for 10 minutes, then at 80 ± 2°C for 20 minutes. Next, a portion of the lysed sample is transferred to a strip tube containing lyophilized ANSR reagents. The tubes are sealed and incubated at 56 ± 2°C on the ANSR reader. Results are generated by the reader and displayed in the ANSR software within 18 minutes. Each tube of ANSR reagents contains an internal positive control, ensuring that the reagents are functioning properly.

INTENDED USER

The ANSR *Listeria* Right Now 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. 96 microbiological swabs in 1 mL Lethen Broth
2. 12 strips of 8 cluster tubes, 1.2 mL
3. 12 strips of 8 reaction tubes, 200 μ L, containing lyophilized ANSR *Listeria* Right Now reagents in 2 sealed foil pouches with desiccant pack
4. 12 strips of 8 permanent caps for reaction tubes
5. 2 bottles lysis reagent suspension buffer, 60 mL
6. 6 vials containing lyophilized lysis reagents
7. 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, $80 \pm 2^\circ\text{C}$ and $37 \pm 2^\circ\text{C}$ (Neogen items 9836-DUAL48, 9829-48) **OR** two 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 μ L (NEOGEN item 9463)
5. Pipette tip rack, 100–1000 μ L, sterile, 96 tips (NEOGEN item 9487)
6. Pipettor, 10–100 μ L, 8-channel (NEOGEN item 9388)
7. Pipette tips, 100 μ 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. Webcam (NEOGEN item WEBCAM)
13. ANSR Ethernet cable (NEOGEN item 9835)
14. 10 mL pipette pump (NEOGEN item 9277)
15. 4.7 inch pipette tip, 100–1,000 μ L, sterile, 96 tips (NEOGEN item 9487-LONG)
16. Pipettes, sterile serological 10 mL (NEOGEN item 8686)
17. 40-slot, 20 mm test tube rack, autoclavable (NEOGEN item 9553)
18. Pipettor, 20–200 mL (NEOGEN item 9276)

STORAGE

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

PRECAUTIONS

1. Use good microbiology laboratory practices.
2. **Dispose of used pipette tips in a covered container containing a fresh solution of 10% bleach. The 10% 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. *Listeria monocytogenes* is a known hazard to pregnant women and immunocompromised individuals. Consult with your facility safety director for specific instructions.
5. Do not use reagents beyond expiration date.
6. 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.
7. 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.
8. Exercise care in all pipetting steps to avoid cross-contamination of samples.
9. Complete all assay steps in sequence, avoiding delays between steps.
10. Tap reaction tubes on bench top to make sure lyophilized reagents are at bottom of the tube prior to adding lysed sample.
11. Excess sanitizer must be rinsed from sample site prior to sample collection.

ENVIRONMENTAL SAMPLE COLLECTION

1. Collect environmental sample using the provided microbiological swabs that are pre-moistened with Lethen Broth after labeling swab tube with sample ID.
2. Sample each surface by swabbing horizontally, vertically and diagonally enough times in each direction to provide full coverage of the test area (up to an area of 4" x 4"). 1" x 1" surface areas were validated in an AOAC study.
3. Pour off the remaining Lethen Broth from the sample collection tubes.
4. After swabbing, place the swab back into the original tube without Lethen Broth.
5. Keep the swab sample collection tubes at 2–8°C.
6. The sample should be tested the same day after collection, not to exceed 8 hours after collection. If the collected sample is stored at 2–8°C within 4 hours of collection, testing can take place within 24 hours from sample collection.
7. If a negative control is desired, use a swab that has not been used in sample collection and process as described by removing the Lethen Broth and adding the lysis buffer.

LYSIS REAGENT SOLUTION PREPARATION

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 18 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 $80 \pm 2^\circ\text{C}$. 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 reaction tubes in foil pouch until they are needed. **NOTE:** The lysis reagent solution should be at room temperature for 15 minutes before use.
3. Connect the ANSR reader to the computer via USB or Ethernet and turn the computer on.
4. Turn on the ANSR reader. The reader will preheat to $56 \pm 2^\circ\text{C}$.
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.

SAMPLE LYSIS

1. Label the appropriate number of cluster tubes to match the sample ID on the tubes with the swabs.
2. Pipette 1 mL of prepared lysis reagent solution into the tube containing the sampled swab **without** the Lethen Broth. Avoid touching the sides of the swab tube with the exception of the pipette tips (Neogen item 9487).
NOTE: Return the lysis reagent solution to the refrigerator after use (within 1 hour).
3. Secure tube cap to the tube. Vortex vigorously for 5–7 seconds, at medium/high speed (2500 RPM), to express the sample from the swab into the lysis solution.

ASSAY PROCEDURE

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

1. Using the long pipette tips (Neogen item 9487-LONG), pipette 500 μL of the lysis reagent solution from the labeled swab tube into a labeled cluster tube. Quickly place the used swab back into the tube after pipetting the lysis reagent solution, and secure the cap.
NOTE: Save remaining 500 μL for additional analysis as needed.
2. After dispensing the pipette tip, take a towel that has been sprayed with 10% bleach (sodium hypochlorite) along the shaft of the pipettor to ensure there is no cross-contamination.
3. Incubate the cluster tube(s) at $37 \pm 2^\circ\text{C}$ for **10 minutes**.
4. Immediately transfer the cluster tube(s) 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 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 μ L filter tips, carefully transfer 50 μ L 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 $56 \pm 2^\circ\text{C}$ 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 and/or if the permanent caps are removed.
9. Click **START** in the ANSR software to begin the **18 minute** assay.
10. Results will be displayed as positive, negative or invalid once the assay is finished. If the result displays an invalid, the test must be repeated. A single repeat test can be run starting at step 6. Alternatively, start over from step 1 if lysis from step 6 has been at $80 \pm 2^\circ\text{C}$ for more than 60 minutes.

INTERPRETATION OF RESULTS

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

FOLLOW-UP TESTING

If desired, follow-up testing of areas producing positive *Listeria* Right Now results can be conducted by re-sampling the areas, prior to any additional cleansing, and by performing one or more of the following analyses: additional *Listeria* Right Now testing, enrichment-based rapid *Listeria* spp. testing, and/or conventional microbiological testing.

DISPOSAL

DO **NOT** AUTOCLAVE.

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.

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

SYTO® 82

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

Molecular beacon probes

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

NEAR™ Technology

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

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.

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>

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 <i>E. coli</i> O157:H7 – up to 96 tests
9824	ANSR for <i>Listeria monocytogenes</i> – up to 96 tests
9870	ANSR for <i>Salmonella</i> – up to 96 tests
9871	ANSR for <i>Listeria</i> – up to 96 tests
9872	ANSR for <i>Campylobacter</i> – up to 96 tests
9873	ANSR for <i>Listeria Right Now</i> [™] – 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 (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

Por favor lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba



USO PREVISTO

El ensayo ANSR® *Listeria Right Now*™ está destinado a ser utilizado como un procedimiento de cribado para la detección de *Listeria spp.* en superficies visiblemente limpias después de la limpieza/previas a la producción sin la necesidad de enriquecimiento. Esta prueba ambiental se puede usar en superficies de acero inoxidable, hormigón sellado, baldosas de cerámica, caucho y plástico. No está diseñada para pruebas de muestras sucias o de matrices de alimentos.

FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS

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

Listeria Right Now es una nueva prueba para la detección de *Listeria spp.* desde superficies ambientales sin enriquecimiento. Todo el contenido recolectado del hisopo se somete a la preparación de la muestra. Después de exprimir el hisopo en el buffer de lisis, se lleva a cabo una reacción de lisis en dos etapas: primero a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 10 minutos, luego a $80 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 20 minutos. A continuación, una parte de la muestra lisada se transfiere a un tubo 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. Cada tubo de reactivos ANSR contiene un control interno positivo, asegurando que los reactivos están funcionando correctamente.

USUARIO PREVISTO

La prueba ANSR *Listeria* Right Now 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. 96 hisopos microbiológicos en 1 mL de caldo Lethen
2. 12 tiras de 8 tubos de 1.2 mL
3. 12 tiras de 8 tubos de reacción, 200 μ L, que contienen reactivos liofilizados ANSR *Listeria* Right Now en 2 bolsas de aluminio selladas con un paquete desecante
4. 12 tiras de 8 tapas permanentes para los tubos de reacción
5. 2 botellas de buffer de suspensión del reactivo de lisis, 60 mL
6. 6 viales con reactivos de lisis liofilizados
7. 1 folleto de instrucciones

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 μ L (producto NEOGEN 9463)
5. Gradilla para puntas de pipeta, 100–1000 μ L, estériles, 96 puntas (producto NEOGEN 9487)
6. Pipeteador, 10–100 μ L, 8 canales (producto NEOGEN 9388)
7. Puntas de pipeta, 100 μ L, 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. Webcam (producto NEOGEN WEBCAM)
13. Cable de Ethernet ANSR (producto NEOGEN 9835)
14. Bomba para pipeta (producto NEOGEN 9277)
15. Punta de pipeta de 4.7 pulgadas, 100–1,000 μ L, estéril, 96 puntas (producto NEOGEN 9487-LONG)
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 μ L (producto NEOGEN 9276)

ALMACENAMIENTO

Almacene los reactivos ANSR entre $2\text{--}8^\circ\text{C}$. Después de retirar los tubos de reacción de la bolsa de aluminio, vuelva a sellarla rápidamente. Deje el paquete desecante en la bolsa en todo momento.

PRECAUCIONES

1. Utilice buenas prácticas de laboratorio de microbiología.
2. **Deseche las puntas de pipetas usadas en un recipiente cubierto que contenga una solución fresca de cloro al 10%. La solución de cloro al 10% debe ser nueva cada día. Use 9 partes de agua con 1 parte de blanqueador de uso doméstico para hacer la solución de cloro al 10%. Las soluciones concentradas deben utilizarse dentro de los 30 días posteriores a la apertura.**
3. **Deseche la solución de cloro y las puntas como basura regular al final de cada día.**
4. *Listeria monocytogenes* es un peligro conocido para mujeres embarazadas e individuos inmunocomprometidos. Consulte con el director de seguridad de su instalación para obtener instrucciones específicas.
5. No utilice los reactivos luego de su fecha de expiración.
6. 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.
7. **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.
8. Tenga cuidado en todos los pasos de pipeteo para evitar la contaminación cruzada de las muestras.
9. Complete todos los pasos del ensayo en secuencia, evitando los retrasos entre los pasos.
10. Golpee los tubos de reacción contra la mesa para asegurarse de que los reactivos liofilizados estén en el fondo del tubo antes de añadir la muestra lisada.
11. El exceso de desinfectante debe enjuagarse del sitio de muestreo antes de la recolección de muestras.

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS AMBIENTALES

1. Recolecte la muestra ambiental usando los hisopos microbiológicos proporcionados que están pre-humedecidos con el caldo Lethen, después de etiquetar el tubo con hisopo con la identificación de la muestra.
2. Muestree cada superficie frotando horizontalmente, verticalmente y diagonalmente bastantes veces en cada dirección para proporcionar una cobertura completa del área de prueba (hasta un área de 4" x 4"). Se validaron áreas superficiales de 1" x 1" en un estudio de la AOAC.
3. Vierta el caldo Lethen restante de los tubos de recolección de muestras.
4. Luego del hisopado, coloque el hisopo nuevamente en el tubo sin el caldo Lethen.
5. Mantenga los tubos de recolección de muestras a 2–8°C.
6. La muestra debe analizarse el mismo día después de la recolección, sin exceder las 8 horas posteriores a la recolección. Si la muestra recolectada se almacena a 2–8°C dentro de las 4 horas de la recolección, la prueba puede realizarse dentro de las 24 horas posteriores a la recolección.
7. Si se desea un control negativo, use un hisopo que no se haya utilizado en la recolección de muestras y procese como se describe, removiendo el caldo Lethen y añadiendo el buffer de lisis.

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. Deje calentar a temperatura ambiente durante 15 minutos.

NOTA: 1 vial de reactivos de lisis es suficiente para aproximadamente 18 muestras. La solución de reactivos de lisis preparada puede ser almacenada a 2–8°C durante un máximo de 30 días.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA ANSR

Antes de iniciar el ensayo:

1. Precaliente un bloque térmico de lisis a $80 \pm 2^\circ\text{C}$. 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: La solución de reactivos de lisis debe estar 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 $56 \pm 2^\circ\text{C}$.
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.

LISIS DE LA MUESTRA

1. Etiquete el número apropiado de tubos en tira para que coincidan con la identificación de la muestra en los tubos con los hisopos.
2. Pipetee 1 mL de la solución de reactivo de lisis preparada en el tubo que contiene el hisopo de muestra sin el caldo Lethéen. Evite tocar los lados del tubo del hisopo a excepción de las puntas de pipeta (producto NEOGEN 9487).
NOTA: Devuelva la solución de reactivo de lisis al refrigerador después de su uso (dentro de 1 hora).
3. Asegure la tapa al tubo. Mezcle vigorosamente con vortex durante 5–7 segundos a velocidad media/alta (2500 RPM) para extraer la muestra del hisopo en la solución de lisis.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

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. Usando las puntas de pipeta largas (producto NEOGEN 9487-LONG), pipetee 500 μL de la solución de reactivo de lisis a partir del tubo con el hisopo etiquetado, en un tubo de microcentrífuga etiquetado. Coloque rápidamente el hisopo usado en el tubo después de pipetear la solución de reactivo de lisis y ajuste bien la tapa.
NOTA: Guarde los 500 μL restantes para un análisis adicional, según sea necesario.
2. Después de descartar la punta de la pipeta, tome una toalla que haya sido rociada con cloro al 10% (hipoclorito de sodio) a lo largo del eje del pipeteador para asegurar que no haya contaminación cruzada.

3. Incube los tubos en tira a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante **10 minutos**.
4. Inmediatamente transfiera los tubos al bloque térmico a $80 \pm 2^\circ\text{C}$ e incube durante **20 minutos**.
NOTA: El tiempo de incubación a $80 \pm 2^\circ\text{C}$ puede extenderse hasta un total de **60 minutos** con el fin de gestionar los tiempos de inicio del ensayo escalonados.
5. **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 por separado. Debe estar calentado 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 dentro de 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) 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.
NOTA: La muestra lisada puede ser transferida del mismo tubo en tira un máximo de 3 veces.
8. Retire la(s) tira(s) de tubos del lector (o el bloque térmico a $56 \pm 2^\circ\text{C}$) 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 ninguna burbuja esté en la parte inferior o la mitad de la muestra. Un golpe ligero de los tubos deberá liberar cualquier burbuja desde la parte inferior o desde la mitad hacia la parte superior. Luego, colóquelo(s) rápidamente en el lector. Cierre la tapa del lector.
NOTA: El lector no dará 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**.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

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

PRUEBA DE SEGUIMIENTO

Si desea, se pueden realizar pruebas de seguimiento de las áreas que producen resultados positivos de *Listeria* Right Now volviendo a muestrear las áreas, antes de cualquier limpieza adicional y realizando uno o más de los siguientes análisis: prueba adicional *Listeria* Right Now, pruebas de *Listeria* spp. basadas en enriquecimiento y/o pruebas microbiológicas convencionales.

DESECHO

NO AUTOCLAVE.

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.

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

SYTO® 82

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

Sondas de balizas moleculares

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

Tecnología NEAR™

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

Referencias

[1] USDA-FSIS (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>

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 foodsafety.neogen.com/sp, 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.

PRODUCTS AVAILABLE

- 9465 **Espojas de muestreo ambiental** (con caldo neutralizante Dey Engley (DE)) – paquete de 100
- 36002 **Espojas 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