



700002865 | 9873

## Product Instructions

 **EN** ANSR *Listeria* Right Now

 **ES** ANSR *Listeria* Right Now

Distributed by:

**NELSON JAMESON** INC.

800-826-8302 [nelsonjameson.com](http://nelsonjameson.com)



## Product Instructions

# ANSR *Listeria* Right Now

### 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  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  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. 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 in a rack, 1.2 mL
3. 12 strips of 8 reaction tubes, 200  $\mu\text{L}$ , 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. 1 bottle lysis reagent suspension buffer, 60 mL
6. 6 vials containing lyophilized lysis reagents

## Equipment Required

1. ANSR reader (100001413 | 9828)
2. Computer and software for connection to ANSR reader (100001418 | 9832)
3. 1 dual heater block with aluminum block inserts for 1.2 mL cluster tubes,  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  and  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  (700006541 | 9386-DUAL48, 100001414 | 9829-48)  
or  
2 single heater blocks with aluminum block inserts for 1.2 mL cluster tubes,  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  and  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  (100001342 | 9386-48D, 100001414 | 9829-48)
4. Pipettor, 100–1000  $\mu\text{L}$  (100001372 | 9463)
5. Pipette tip rack, 100–1000  $\mu\text{L}$ , sterile, 96 tips (100001378 | 9487)
6. Pipettor, 10–100  $\mu\text{L}$ , 8-channel (100001348 | 9388)
7. Pipette tips, 100  $\mu\text{L}$ , sterile, filtered, 96 tips (100001349 | 9389)
8. Vortex mixer, adjustable speed (100001381 | 9494)
9. 3 thermometers, traceable (100001387 | 9518)
10. Timer, 3-channel (100001358 | 9426)
11. Optional-for-use heater block with 0.2 mL reaction tube aluminum block insert,  $56 \pm 2^\circ\text{C}$  (10001342 | 9836-48D, 100001416 | 9829-64)
12. Webcam (100001874 | WEBCAM)
13. ANSR ethernet cable (100001419 | 9835)
14. 10 mL pipette pump (100001332 | 9277)
15. 4.7 inch pipette tip, 100–1,000  $\mu\text{L}$ , sterile, 96 tips (100001379 | 9487-LONG)
16. Pipettes, sterile serological 10 mL (100001327 | 8686)
17. 40-slot, 20 mm test tube rack, autoclavable (100001392 | 9553)
18. Pipettor, 20–200  $\mu\text{L}$  (100001331 | 9276)

## Storage

Store ANSR reagents at  $2\text{--}8^\circ\text{C}$ . After removing reaction tubes from the foil pouch, promptly reseal 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 the 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.

- Exercise care in all pipetting steps to avoid cross-contamination of samples.
- Complete all assay steps in sequence, avoiding delays between steps.
- Tap reaction tubes on bench top to make sure lyophilized reagents are at the bottom of the tube prior to adding lysed sample.
- Excess sanitizer must be rinsed from sample site prior to sample collection.

## Environmental Sample Collection

- Label swab tube with Sample ID. Collect environmental sample using provided pre-moistened swabs with Letheen Broth from the same matching ANSR LRN kit purchased. Do not mix parts of one assay kit with another.
- 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.
- Pour off the remaining Letheen Broth from the sample collection tubes.
- After swabbing, place the swab back into the original tube without Letheen Broth.
- Keep the swab sample collection tubes at 2–8°C.
- 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.
- If a negative control is desired, use a swab that has not been used in sample collection and process as described by removing the Letheen 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 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:

- 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.
- 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.

- Connect the ANSR reader to the computer via USB or Ethernet and turn the computer on.
- Turn on the ANSR reader. The reader will preheat to  $56 \pm 2^\circ\text{C}$ .
- 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

- Label the appropriate number of cluster tubes to match the sample ID on the tubes with the swabs.
- Pipette 1 mL of prepared lysis reagent solution into the tube containing the sampled swab without the Letheen Broth. Avoid touching the sides of the swab tube with the exception of the pipette tips (100001378 | 9487).

**Note:** Return the lysis reagent solution to the refrigerator after use (within 1 hour).

- 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 1.2 mL cluster tubes if desired.

1. Using the long pipette tips (100001379 | 9487-LONG), pipette 500  $\mu$ L 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  $\mu$ L 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 tubes 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 tubes 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  $\mu$ L filter tips, carefully transfer 50  $\mu$ L from the top third of the lysed samples in the cluster tubes to the reaction tubes. Debris may accumulate at the bottom of the lysis tubes that will interfere with assay performance. Avoid transfer of debris by aspirating from the top third of the lysis tubes. Do not prime the pipette tips and do not mix before aspirating. Place the provided permanent caps on the reaction tubes.

**Note:** Lysed sample may be transferred from the same cluster tube a maximum of 3 times.

8. Remove the strips 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.

## Customer Service

Neogen Customer and Technical Services can be contacted through [neogen.com](https://www.neogen.com) and product training is available by request.

## Safety Data Sheets (SDS) Information Available

SDS are available for all test kits at [neogen.com](https://www.neogen.com) or by calling 800.234.5333 or 517.372.9200.

## Terms and Conditions

Neogen's full terms and conditions are available [online](#).

## 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.

## 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 included in this product is sold under license from PHRI Properties for use only in testing of food products, feeds, beverages, and water.

### NEAR Technology

This product utilizes the patent pending NEAR isothermal technology and is sold under license from Ionian Technologies, San Diego, CA, for use only in testing of food, beverage, and water safety.

## References

<sup>[1]</sup> MLG 41.04: Isolation for identification of *Campylobacter* from poultry rinse, sponge and raw products samples. MLG 8.11: Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from red meat, poultry, ready-to-eat siluriformes (fish) and egg products, and environmental samples.





## Product Instructions

# ANSR *Listeria* Right Now

### 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 Letheen
2. 12 tiras de 8 tubos de 1.2 mL
3. 12 tiras de 8 tubos de reacción, 200  $\mu\text{L}$ , 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

## Equipo requerido

1. Lector ANSR (100001413 | 9828)
2. Computadora y software para la conexión del lector ANSR (100001418 | 9832)
3. 1 bloque térmico doble con piezas de aluminio para los tubos de 1.2 mL,  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  y  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  (700006541 | 9386-DUAL48, 100001414 | 9829-48)  
o  
2 bloques térmicos individuales con piezas de aluminio para tubos de 1.2 mL,  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  y  $80 \pm 2^\circ\text{C}$  (100001342 | 9386-48D, 100001414 | 9829-48)
4. Pipeteador, 100–1000  $\mu\text{L}$  (100001372 | 9463)
5. Gradilla para puntas de pipeta, 100–1000  $\mu\text{L}$ , estériles, 96 puntas (100001378 | 9487)
6. Pipeteador, 10–100  $\mu\text{L}$ , 8 canales (100001348 | 9388)
7. Puntas de pipeta, 100  $\mu\text{L}$ , estériles, con filtro, 96 puntas (100001349 | 9389)
8. Vortex, velocidad ajustable (100001381 | 9494)
9. 3 termómetros, rastreables (100001387 | 9518)
10. Cronómetro, 3 canales (100001358 | 9426)
11. Bloque térmico opcional con pieza de aluminio para tubos de reacción de 0.2 mL,  $56 \pm 2^\circ\text{C}$  (10001342 | 9836-48D, 100001416 | 9829-64)
12. Webcam (100001874 | WEBCAM)
13. Cable de Ethernet ANSR (100001419 | 9835)
14. Bomba para pipeta (100001332 | 9277)
15. Punta de pipeta de 4.7 pulgadas, 100–1,000  $\mu\text{L}$ , estéril, 96 puntas (100001379 | 9487-LONG)
16. Pipetas serológicas, estériles (100001327 | 8686)
17. Gradilla de 40 ranuras para tubos de ensayo de 20 mm, autoclavable (100001392 | 9553)
18. Pipeteador, 20–200  $\mu\text{L}$  (100001331 | 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. Etiquete el tubo del hisopo con el ID de la muestra. Recoja la muestra ambiental utilizando los hisopos prehumedecidos proporcionados con caldo Letheen del mismo kit ANSR LRN correspondiente adquirido. No mezcle partes de un kit de ensayo con otro.
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 Letheen restante de los tubos de recolección de muestras.
4. Luego del hisopado, coloque el hisopo nuevamente en el tubo sin el caldo Letheen.
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 Letheen y añadiendo el buffer de lisis.

## Lysis Reagent Solution Preparation Preparación de la 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

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 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  $56 \pm 2^\circ\text{C}$ .
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 Letheen. Evite tocar los lados del tubo del hisopo a excepción de las puntas de pipeta (100001378 | 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 (100001379 | 9487-LONG), pipetee 500  $\mu$ L 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  $\mu$ L 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  $\mu$ L, transfiera cuidadosamente 50  $\mu$ L del tercio superior de las muestras en el los tubos cluster al a los tubos de reacción. Se pueden acumular residuos en la parte inferior del de los tubos de lisis que interferirán con el rendimiento del ensayo. Evite la transferencia de residuos aspirando desde el tercio superior del de los tubos 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 las tiras 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, colóquelos 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 los resultados

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

## 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.

## Servicio al cliente

Se puede contactar a los Servicios Técnicos y de Atención al Cliente de Neogen a través de [neogen.com](https://www.neogen.com) y la capacitación sobre productos está disponible a pedido.

## Información disponible sobre las hojas de datos de seguridad (SDS)

Hay fichas de datos de seguridad (SDS) disponibles para este kit de prueba y todos los kits de prueba de Neogen en el sitio de internet de Neogen en [neogen.com](https://www.neogen.com) o llamando a Neogen al 800.234.5333 o al 517.372.9200.

## Términos y condiciones

Los términos y condiciones completos de Neogen están disponibles [en línea](#).

## Garantía

Neogen Corporation no emite garantías de ningún tipo, expresas o implícitas, excepto respecto a que los materiales que constituyen sus productos son de calidad estándar. En caso de un material defectuoso, Neogen reemplazará el producto. El comprador asume todos los riesgos y la responsabilidad resultante del uso de este producto. No hay garantía de perspectivas de comercialización de este producto o la idoneidad del producto para cualquier propósito. Neogen no será responsable de ningún daño, incluyendo daños especiales o consecuentes, o gastos surgidos directa o indirectamente del uso de este 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](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.

## Referencias

<sup>[1]</sup> MLG 41.04: Isolation for identification of *Campylobacter* from poultry rinse, sponge and raw products samples. MLG 8.11: Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from red meat, poultry, ready-to-eat siluriformes (fish) and egg products, and environmental samples.

