SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

현장을 이해하고, 필요한 솔루션을 연결합니다.

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



COMPANY INFORMATION

스냅슛 (SNAPSHOOT)

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

TECHNICAL DOCUMENTS

인증서 · 데이터시트 · 기술자료

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

ABOUT SNAPSHOOT

제품 공급을 넘어, 현장에 맞는 해결책으로

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

추락방지 시스템

안전대부착설비 · 수평·수직 라이프라인
레일 시스템 · 리지드 포스트

밀폐공간 진입·구조 솔루션

데빗암 · 삼각대 · 구조용 윈치
윈치 안전블록 · 구조장비

산업안전 보호구

전신형 안전대 · 랜야드 · 안전블록
작업 환경에 맞춘 개인보호구

산업용 소재·건축자재

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

SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

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

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

NEOGEN®

700007660 | MDALRN96

Product Instructions

- (EN) Neogen® Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now™
- (FR) Kit de détection moléculaire Neogen® – *Listeria* Right Now™
- (DE) Neogen® Molekularer Detektions-Assay – *Listeria* Right Now™
- (ES) Neogen®, ensayo de detección molecular: *Listeria* Right Now™
- (PT) Ensaio para Detecção Molecular Neogen® – *Listeria* Right Now™
- (JA) Neogen® 病原菌検出アッセイ Right Now (TM) リステリア属菌 環境モニタリング用
- (ZH) Neogen® 分子检测分析 – *Listeria* Right Now™
- (TW) Neogen® 分子檢測系統 – *Listeria* Right Now™
- (TH) ชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen® – *Listeria* Right Now™
- (KO) Neogen® 분자 검출 분석 – *Listeria* Right Now™

LRN

Listeria **Right Now™**



Product Instructions

Neogen® Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now™

Product Description and Intended Use

The Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now (MDALRN96) kit is used with the Neogen® Molecular Detection System for rapid and specific detection of viable and non-viable *Listeria* spp. in samples from visibly clean post-cleaning/sanitation and pre-production environmental surfaces without the need for enrichment. This method provides presumptive results only and is not intended for confirmation.

This assay detects Ribosomal RNA (rRNA) on environmental surfaces as an indication of the presence of the target microorganism. Because rRNA can persist even after the organism is no longer viable, the method may generate positive results in situations where the organism cannot be recovered by traditional culture-based methods, which detect only live cells. The assay uses the included Neogen Right Now™ Sampler, wet with a sampling solution, to monitor *Listeria* in the environment from food and beverage manufacturing facilities.

The screening kit contains reagent tubes with blue, color-coded lyophilized pellets to detect *Listeria* species.

After sample collection using the Right Now Sampler, the contents are lysed to release nucleic acids. Ribosomal RNA is then reverse transcribed into complementary DNA (cDNA). The assay employs loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for rapid, highly specific, and sensitive nucleic acid amplification, with bioluminescent detection of the amplified product.

The Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now is intended for use in a laboratory environment by professionals trained in laboratory techniques. Neogen has not documented the use of this product in industries other than food or beverage. For example, Neogen has not documented this product for testing pharmaceutical, cosmetics, clinical, or veterinary samples. The Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now has not been evaluated with all possible food process environments or with all possible strains of *Listeria*. Neogen recommends evaluation of the method in the user's environment using a sufficient number of samples for particular environmental challenges to ensure that the method meets the user's criteria.

Use the paired Neogen® Right Now™ Matrix Control (RNMC96) to demonstrate assay robustness in the user environment when implementing the method or during method verification.

The Neogen® Molecular Detection Instrument is intended for use with samples that have undergone heat treatment during the assay lysis step, which is designed to lyse the cells and release the nucleic acids from the organisms present in the sample. Samples that have not been properly heat treated during the assay lysis step may be considered a potential biohazard and should NOT be inserted into the Neogen Molecular Detection Instrument.

Neogen Food Safety is certified ISO (International Organization for Standardization) 9001 for design and manufacturing.

The Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now test kit contains enough reagents for 96 tests, as described in Table 1.

Table 1. Kit Components

Item	Identification	Quantity	Contents	Comments
Right Now™ Sampler	Blue capped tubes with polyurethane samplers	96 samplers	Sampler wet with 1.5 mL sampling solution	Ready to use
Right Now™ Lysis Reagent Resuspension Buffer	Clear plastic bottles	2 bottles (Each can reconstitute two lysis buffer reagent bottles)	Resuspension buffer	Ready to use
Right Now™ Lysis Buffer Reagent	Clear glass bottles	4 bottles (Reconstituted, each can fill 28 lysis tubes)	Lysis reagent	Lyophilized
Lysis (LS) tubes	Clear cluster tubes	96 (12 strips of 8 tubes each)	Empty	Racked and ready to use
Listeria Right Now™ Reagent Tubes	Clear tubes with blue pellets	96 (3 pouches containing 4 strips of 8 tubes)	Lyophilized specific amplification and detection mix	Ready to use
Extra caps	Clear caps	96 (12 strips of 8 caps)		Ready to use
Right Now™ Reagent Control (RC)	Clear flip-top tubes	16 (2 pouches of 8 individual tubes)	Lyophilized control nucleic acid, amplification, and detection mix	Ready to use

Safety

The user should read, understand, and follow all safety information in the instructions for the Neogen Molecular Detection System and the Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now. Retain the safety instructions for future reference.

WARNING:	Indicates a hazardous situation, which, if not avoided, could result in death or serious injury and/or property damage.
CAUTION:	Indicates a hazardous situation, which, if not avoided, could result in minor or moderate injury and/or property damage.

WARNING

Do not use the Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now™ for clinical diagnosis of listeriosis in humans or animals.

The user must train personnel in current proper testing techniques, for example: Good Laboratory Practices[1] , ISO 7218:2024[2], or CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)[3].

The Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now is not designed for sampling soiled surfaces or for food matrix testing.

To reduce the risks associated with a false-negative result leading to the use of contaminated surfaces:

- Follow the protocol and perform the tests exactly as stated in the product instructions.
- Always use Good Laboratory Practices to transfer samples and reagents during execution of the method.
- Store the Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now as indicated on the package and in the product instructions.
- Always use the Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now by the expiration date.
- Always use the samplers contained in the kit. Do not use samplers from other sources.
- Right Now Sampler is single-use.

- Do not pause once reagent pellet rehydration has started.
- It is strongly recommended that female laboratory staff be informed of the risk to a developing fetus resulting from infection of the mother through exposure to *Listeria monocytogenes*.

To reduce the risks associated with exposure to chemicals and biohazards:

- Perform pathogen testing in a properly equipped laboratory under the control of trained personnel.
- Users must clean food contact surface after sampling to remove any remaining swabbing solution.

To reduce the risks associated with cross-contamination while preparing the assay:

- Always wear gloves (to protect the user and prevent introduction of nucleases).

To reduce the risks associated with environmental contamination:

- Follow local, regional, and national regulations for disposal requirements.

CAUTION

To reduce the risks associated with exposure to hot liquids:

- Do not exceed the recommended temperature setting on the heater.
- Do not exceed the recommended heating time.
- Use an appropriate, calibrated thermometer to verify the Neogen® Molecular Detection Heat Block Insert temperature (e.g., a partial immersion thermometer or digital thermocouple thermometer, not a total immersion thermometer). The thermometer must be placed in the designated location in the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert.

To reduce the risks associated with cross-contamination while preparing the assay:

- Change gloves prior to reagent pellet hydration.
- Use of long-tip, sterile, aerosol barrier (filtered), molecular biology grade pipette tips are recommended.
- Use a new pipette tip for each sample transfer.
- Use Good Laboratory Practices to transfer the sample to the lysis tube. To avoid cross-contamination between samples, the user may choose to clean the shaft of the pipette with a wipe with 10% bleach and then with a clean paper towel or use extended length pipette tips.
- Use a molecular biology workstation containing a germicidal lamp where available.
- Periodically decontaminate laboratory benches and equipment (pipettes, cap/decap tools, reagent tube rack, etc.) with a 1–5% (v:v in water) chlorine-based household bleach solution or nucleic acid removal solution.

To reduce the risks associated with a false-positive result:

- Never open reagent tubes post-amplification.
- Always dispose of the contaminated tubes by soaking in a 1–5% (v:v in water) chlorine-based household bleach solution (containing sodium hypochlorite) for 1 hour, and away from the assay preparation area.
- Never autoclave reagent tubes post-amplification.

Consult the Safety Data Sheet for additional information and local, state, and national regulations for disposal.

If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at neogen.com or contact your local Neogen representative or distributor.

User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at neogen.com or contact your local Neogen representative or distributor for more information.

When selecting a test method, it is important to recognize that external factors such as sampling methods, testing protocols, sample preparation, handling, laboratory technique, and the sample itself may influence results.

It is the user's responsibility in selecting any test method or product to evaluate a sufficient number of samples with the appropriate matrices and microbial challenges to satisfy the user that the chosen test method meets the user's criteria.

It is also the user's responsibility to determine that any test methods and results meet their customers' and suppliers' requirements.

As with any test method, results obtained from the use of any Neogen Food Safety product do not constitute a guarantee of the quality of the samples or processes tested.

To help customers evaluate the fitness for purpose of the method during implementation, Neogen has developed the Neogen® Molecular Detection–Right Now Matrix Control kit (also called an amplification control in ISO 24914:2026[4]). Use the Right Now Matrix Control (RNMC96) to assess matrix interference with the results of the Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now during validation and verification. Follow the ISO 16140-3:2021[5] standard and/or your organization's quality assurance program to determine the representative number of samples required when verifying the method performance and defining the scope of its application in your laboratory. Routine use of the Right Now Matrix Control is not required once the method has been verified and the laboratory scope of application is established. Follow your organization's quality assurance program to determine on a case-by-case basis the need for the Neogen Right Now Matrix Control and its frequency of use during routine testing.

Limitation of Warranties / Limited Remedy

EXCEPT AS EXPRESSLY STATED IN A LIMITED WARRANTY SECTION OF INDIVIDUAL PRODUCT PACKAGING, NEOGEN DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE. If any Neogen Food Safety Product is defective, Neogen or its authorized distributor will, at its option, replace or refund the purchase price of the product. These are your exclusive remedies. You must promptly notify Neogen within sixty days of discovery of any suspected defects in a product and return it to Neogen. Please contact your Neogen Food Safety representative or authorized Neogen distributor for any further questions.

Limitation of Neogen Liability

NEOGEN WILL NOT BE LIABLE FOR ANY LOSS OR DAMAGES, WHETHER DIRECT, INDIRECT, SPECIAL, INCIDENTAL, OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOST PROFITS. In no event shall Neogen's liability under any legal theory exceed the purchase price of the product alleged to be defective.

For Neogen's full terms and conditions, please visit: neogen.com/en/terms-and-conditions/

Storage and Disposal

Store the Neogen® Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now at 2–8°C. Do not freeze. Keep the kit away from light during storage.

After opening the kit, check that the foil pouch, plastic, and glass bottles are undamaged. If the kit contents are damaged, do not use it.

After opening, unused reagent tubes should always be stored in the resealable pouch with the desiccant inside to maintain stability of the lyophilized reagents. Store resealed pouches at 2–8°C for no longer than 60 days.

After use, recap the Right Now™ Lysis Reagent Resuspension Buffer until firmly capped.

Reconstituted Right Now™ Lysis Buffer Reagent can be stored capped at 2–8°C for up to 21 days.

If necessary, the cap on the Lysis Buffer Reagent can be further secured with Parafilm®.

Do not use Neogen® Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now past the expiration date. The expiration date and lot number are noted on the outside label of the box.

When testing is complete, follow local, regional, and national regulations for the disposal of contaminated waste. Consult the Safety Data Sheet for additional information.

Specific Instructions for Validated Methods

AOAC® *Performance Tested Methods*℠(PTM) Certificate #042604

This method has been granted AOAC® *Performance Tested Methods*℠ (PTM) certification. In AOAC Research Institute PTM℠ programs, the Neogen Molecular Detection Assay-*Listeria* Right Now™ was demonstrated to be an effective method for the detection of viable and non-viable *Listeria* spp. on stainless steel surfaces (up to 4” x 4”).

Instructions for Use

Follow all instructions carefully. Failure to do so may lead to inaccurate results.

Periodically decontaminate laboratory benches and equipment (pipettes, cap/decap tools, reagent tube rack, etc.) with a 1–5% (v:v in water) chlorine-based household bleach solution or nucleic acid removal solution.

The user should complete the Neogen® Molecular Detection System operator qualification (OQ) training, as described in the “Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System” document [(6)].

1. Preparation of Right Now™ Sampler

1.1 Label the Right Now Sampler tube with the sample identification (ID).

1.2 Flick the Right Now Sampler tube twice to bring the sampling solution to the bottom of the tube.

1.3 Open the Right Now Sampler tube and press the sampler on the wall of the tube to remove extra sampling solution.

1.4 Aseptically, pour the extra sampling solution out of the tube.

1.5 Return the Right Now Sampler to the empty tube.

2. Sample collection

2.1. Sample the surface by swabbing horizontally, vertically, and diagonally to provide full coverage of the test area (1 × 1 in to 12 × 12 in, 2.5 × 2.5 cm to 30 × 30 cm). Flip the Right Now Sampler over to the other side, and swab the same sampled surface.

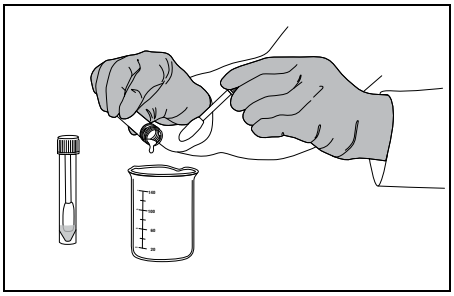
2.2. Place the Right Now Sampler back into the empty tube.

2.3. Store the samplers at 2–8°C if not testing immediately. The Right Now Sampler can be held for up to 24 hours at 2–8°C before testing. Sample holding is outside the scope of the AOAC validation.

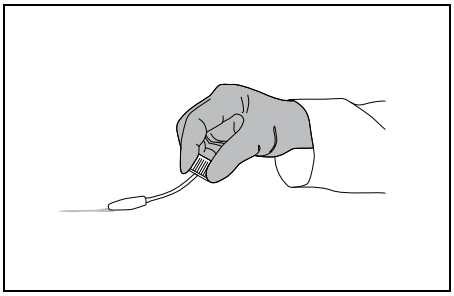
3. Preparation of Right Now™ Lysis Buffer Reagent (lytic enzyme)

3.1. Reconstitute one bottle of Right Now™ Lysis Buffer Reagent that contains the lyophilized lytic enzyme with 28 mL of the Right Now™ Lysis Reagent Resuspension Buffer. Swirl gently to mix. Allow the lysis buffer to warm up to room temperature before use.

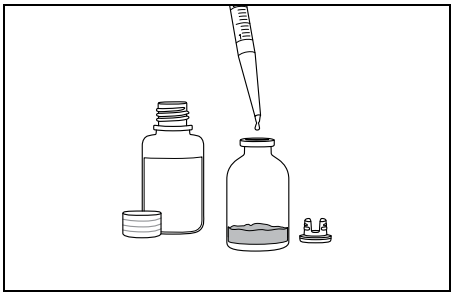
NOTE: Rehydrated lysis buffer can be stored at 2–8°C for 21 days. Write the date on the vial that the lytic enzyme was prepared.



Aseptically pour off the excess sampling solution in tube before swabbing.



Sample the surface by swabbing horizontally, vertically, and diagonally to provide full coverage of the test area (1×1 in to 12×12 in). Flip the Right Now Sampler over to the other side and swab the same sampled surface.



Reconstitute one bottle of lysis buffer reagent (lyophilized lytic enzyme) with 28 mL of lysis reagent resuspension buffer. Swirl gently to mix. Allow the lysis buffer to warm up to room temperature before use.

Preparation of equipment

4. Preparation of the Neogen® Molecular Detection Speed Loader Tray

4.1 Wet a cloth or disposable towel with a 1–5% (v:v in water) household bleach solution and wipe the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray.

4.2 Rinse the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray with water.

4.3 Use a disposable towel to wipe the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray dry.

4.4 Ensure the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray is dry before use.

Two Neogen Molecular Detection Heat/Chill Block Inserts are required for this procedure. Both inserts are the same product (700000145) but are used for different functions.

For clarity within the procedure, the insert used for the heating step will be referred to as the Molecular Detection Heat Block Insert, and the insert used for the cooling step will be referred to as the Molecular Detection Chill Block Insert. These designations are used only to distinguish their roles and do not indicate separate products.

5. Preparation of the Neogen® Molecular Detection Chill Block Insert

5.1 Place the Neogen Molecular Detection Chill Block Insert directly on the laboratory bench. Use the block at ambient laboratory temperature.

6. Preparation of the Neogen® Molecular Detection Heat Block Insert

6.1 Place the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert in a dry double block heater unit. Turn on the dry block heater unit and set the temperature to allow the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert to reach and maintain a temperature of 100 ± 1°C.

NOTE: Depending on the heater unit, allow approximately 30 minutes for the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert to reach temperature. Using an appropriate, calibrated thermometer (e.g., a partial immersion thermometer, digital thermocouple thermometer, not a total immersion thermometer) placed in the designated location, verify that the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert is at 100 ± 1°C.

7. Preparation of the Neogen® Molecular Detection Instrument

7.1 Launch the Neogen® Molecular Detection Software and log in. Contact your Neogen Food Safety representative to ensure you have the most updated version of the software.

7.2 Turn on the Neogen Molecular Detection Instrument.

7.3 Create a New Run or edit a run by selecting a well for each sample. Refer to the Neogen Molecular Detection System User Manual for details.

7.4 For the *Listeria* Right Now (LRN) Assay, select the LRN icon on the Neogen Molecular Detection Software and assign to each well.

7.5 Assign the LRN NC icon and the LRN RC icon to corresponding wells within the run for the negative control and reagent control respectively.

7.6. LRN NC is set up for each run and one LRN RC is set up for the kit.

NOTE: The Neogen Molecular Detection Instrument must reach and maintain a temperature of 60°C before inserting the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray with reaction tubes. This heating step takes approximately 20 minutes and is indicated by an ORANGE light on the instrument's status bar. When the instrument is ready to start a run, the status bar will turn GREEN.

8. Lysis for *Listeria* Right Now™ Assay

8.1 Transfer 1 mL of the Right Now™ Lysis Buffer Reagent solution prepared in 3.1 into the Right Now Sampler used to collect the sample (section 2). Avoid touching the sides of the Right Now Sampler tube. Change tips with each sample to prevent contamination of the lysis buffer.

NOTE: Return the unused lysis buffer to the refrigerator after use (within 1 hour).

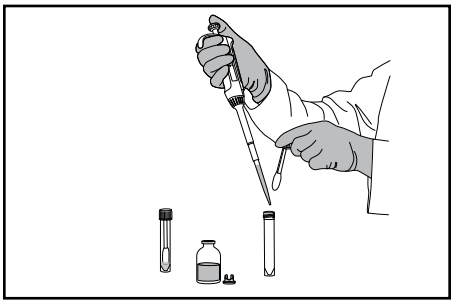
8.2 Close the tube cap. Mix the Right Now Sampler tube vigorously with a vortex mixer for 5–10 seconds to express the sample from the Right Now Sampler.

8.3 Place the number of individual cluster tubes in an empty rack. One empty cluster tube is required for each sample to be tested. Always include an additional empty cluster tube for the negative control (NC).

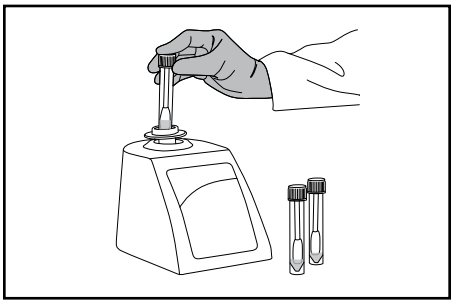
8.4 Remove the Right Now Sampler from the tube prepared in 8.1 and stand it on its cap on the bench. Avoid touching the sampler to prevent contamination.

8.5 Transfer 500 µL from each Right Now Sampler tube into a corresponding empty cluster tube using an extended length pipette tip. Return the sampler to the tube and secure the cap.

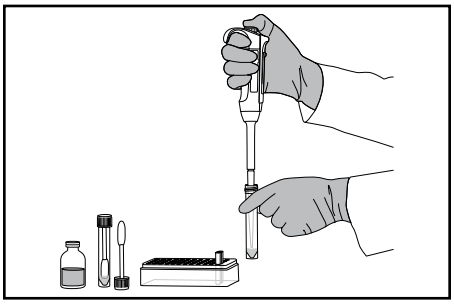
NOTE: Extended-length pipette tips (that are longer than standard pipette tips) are recommended. In case the pipette shaft touches the Right Now Sampler tube, eject the pipette tip, then use a towel sprayed with 1–5% bleach to thoroughly wipe the shaft of the pipette to prevent cross-contact contamination between samples.



Transfer 1 mL of the Right Now™ Lysis Buffer Reagent solution into the Right Now™ Sampler used to collect the sample. Avoid touching the sides of the Sampler tube.



Close the tube cap. Mix the Sampler tube vigorously with a vortex mixer for 5–10 seconds to express the sample from the Sampler.



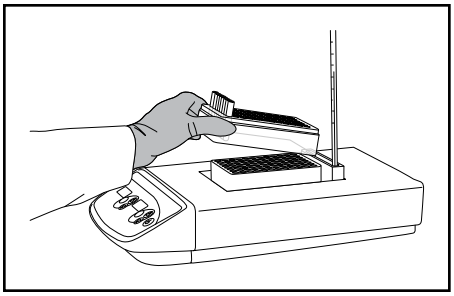
Using an extended-length pipette tip, transfer 500 µL of each sample from the Sampler tube into the corresponding empty cluster tube.

8.6 When all samples have been transferred, prepare the NC by transferring 500 µL of lysis buffer (prepared in 3.1) into an empty cluster tube. Do not use water as a NC.

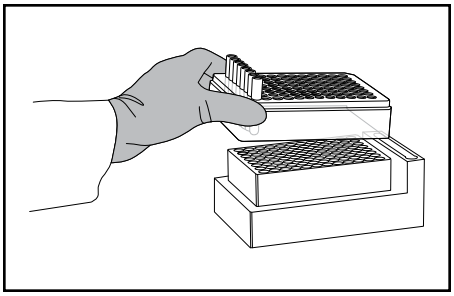
8.7 Verify that the temperature of the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert is at 100 ± 1°C.

8.8 **Heating step:** Place the uncovered rack of cluster tubes in the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert and heat for 10 ± 1 minutes. During heating, the lysate may turn cloudy.

8.9 **Cooling step:** Remove the uncovered rack of cluster tubes from the heating block and allow it to cool in the Neogen Molecular Detection Chill Block Insert at least 5 minutes and a maximum of 60 minutes. The Neogen Molecular Chill Block Insert, used at ambient temperature, should sit directly on the laboratory bench. When cool, the lysate should be clear.



Place the uncovered rack of cluster tubes in the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert and heat for 10 ± 1 minutes. During heating, the lysate may turn cloudy.



Remove the uncovered rack of cluster tubes from the heating block and allow it to cool in the Neogen Molecular Detection Chill Block Insert at least 5 minutes and a maximum of 60 minutes.

9. Amplification

9.1 One Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now Reagent Tube is required for each sample and the NC.

9.1.1 Reagent tube strips can be cut to the desired tube number. Select the number of individual reagent tubes or 8-tube strips needed.

9.1.2 Avoid disturbing the reagent pellets from the bottom of the tubes.

9.2 Remove one *Listeria* Right Now Reagent Control (RC) tube and place it in the rack.

9.3 For LRN NC lysate, select and place one *Listeria* Right Now Reagent Tube in the same rack. To avoid cross-contamination, decap one reagent tube strip at a time and use a new pipette tip for each transfer step.

9.4 Transfer the lysates to a *Listeria* Right Now Reagent Tube as described below.

9.5 Use the Neogen® Molecular Detection Cap/Decap Tool-reagent to decap the reagent tubes – one reagent tube strip at a time. Discard cap.

9.5.1 Transfer 50 µL of sample lysate from the upper ½ of the liquid in the cluster tube (avoid precipitate) into the Neogen *Listeria* Right Now reagent tube. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.

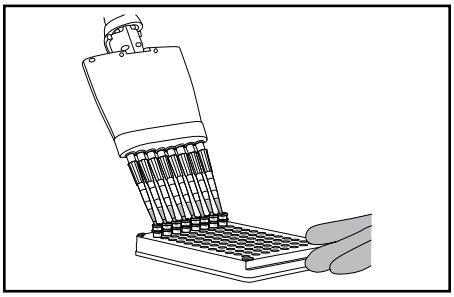
9.5.2 Repeat step 9.5.1 until all individual sample lysate has been added to a reagent tube in the strip.

9.5.3 Cover the reagent tubes with the provided extra caps and use the rounded side of the Neogen Molecular Detection Cap/Decap Tool-reagent to apply pressure in a back-and-forth motion, ensuring that the cap is tightly applied.

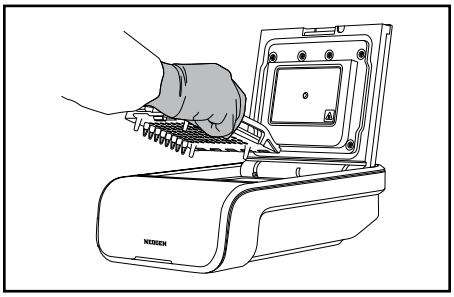
9.5.4 Repeat steps 9.5.1 to 9.5.3 as needed for the number of samples to be tested.

9.5.5 When all sample lysates have been transferred, transfer 50 µL of the NC lysate to one *Listeria* Right Now Reagent Tube. Mix by gently pipetting up and down 5 times.

9.5.6 Finally, transfer 50 µL of NC lysate into a Right Now™ Reagent Control (RC). Mix by gently pipetting up and down 5 times.



Transfer 50 µL of sample lysate from the upper ½ of the cluster tube into the LRN Reagent Tube. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.



Load capped tubes into a clean and decontaminated Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray. Close and place it into the Neogen MDS. Close the lid to start the assay

9.6 Load capped tubes into a clean and decontaminated Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray. Close and latch the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray lid.

9.7 Review and confirm the configured run in the Neogen Molecular Detection System Software.

9.8 Click the start button in the software and select the instrument for use. The selected instrument's lid automatically opens.

9.9 Place the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray into the Neogen Molecular Detection Instrument and close the lid to start the assay. Results are provided within 45 minutes, although positives may be detected sooner.

9.10 After the assay is complete, remove the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray from the Neogen Molecular Detection Instrument and dispose of the tubes by soaking in a 1–5% (v:v in water) chlorine-based household bleach solution for 1 hour, and away from the assay preparation area.

NOTE: To minimize the risk of false positives due to cross-contamination, never open reagent tubes containing amplified DNA. Always dispose of sealed reagent tubes by soaking in a 1–5% (v:v in water) chlorine-based household bleach solution for 1 hour, and away from the assay preparation area.

Results and Interpretation

An algorithm interprets the light output curve resulting from the detection of nucleic acid amplification. Results are analyzed automatically by the software and are color-coded based on the result. A Positive or Negative result is determined by analysis of a number of unique curve parameters. Positive results are reported in real-time, while Negative results will be displayed after the run is completed.

NOTE: Even a negative sample will not give a zero reading as the system and Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now amplification reagents have a "background" relative light unit (RLU) reading.

Table 2: Result symbols for samples and interpretation as provided by the Neogen Molecular Detection System Software.

Well Type	Well Result Symbol	Result	Interpretation
Sample		Positive	The sample is positive for *Listeria* spp.
Sample		Negative	The sample is negative for *Listeria* spp.
Sample		Inhibited*	The sample matrix was inhibitory for the assay. A re-test may be required.
Sample		Error*	No bioluminescence was detected. A re-test may be required.

*Refer to the run report for additional details on the results. If needed, contact your local Neogen representative for troubleshooting assistance.

Confirmation

Presumptive positive results obtained with this method cannot be confirmed. The end user may implement the appropriate cleaning protocol and retest. Or if an isolated colony is required, reswab the test area and perform testing using the cultural procedures outlined in FDA BAM Ch. 10[7] or ISO 11290-1[8].

References

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. NF EN ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
3. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
4. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
5. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.
7. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 10: Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods (April 22)
8. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 1: Detection method, https://www.iso.org/standard/60313.html

Explanation of Symbols

www.neogen.com/foodsafety/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
Auchincruive House
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

NEOGEN®

Neogen Corporation, 620 Lesher Place, Lansing, MI 48912 USA.
© Neogen Corporation 2026. All rights reserved. Neogen is a registered trademark of Neogen Corporation.
All other brand and product names are trademarks or registered trademarks of their respective companies.

FS02285C_0426

Instructions relatives au produit

Kit de détection moléculaire Neogen® – *Listeria* Right Now™

Description et utilisation du produit

Le kit de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now (MDALRN96) est utilisé avec le système de détection moléculaire Neogen® pour la détection rapide et spécifique des *Listeria* spp viables et non viables. dans des échantillons environnementaux prélevés sur des surfaces visiblement propres après nettoyage/assainissement et avant production, sans étape d'enrichissement. Il utilise l'écouvillon Neogen Right Now™, inclus dans le kit et pré-humidifié avec une solution d'échantillonnage, pour surveiller la présence de *Listeria* dans les environnements d'usines agroalimentaires. Cette méthode donne des résultats présomptifs uniquement et n'est pas destinée à une confirmation ultérieure.

Ce test détecte l'ARN ribosomique (ARNr) sur les surfaces environnementales comme indication de la présence du micro-organisme cible. L'ARN ribosomique étant capable de persister même après la perte de viabilité de l'organisme, cette méthode peut donner des résultats positifs dans des conditions où l'organisme ne peut être isolé grâce à des méthodes conventionnelles par culture, lesquelles détectent seulement les cellules vivantes. Le test utilise l'écouvillon Neogen Right Now™ inclus, humidifié avec une solution d'échantillonnage, pour surveiller la présence de *Listeria* dans les environnements d'usines agroalimentaires.

Le kit de détection contient des tubes de réactifs avec un mélange lyophilisé identifiable par sa couleur bleue, permettant la détection de *Listeria* spp.

Après le prélèvement avec l'écouvillon Right Now, l'échantillon est lysé pour en libérer les acides nucléiques. L'ARN ribosomique est ensuite rétrotranscrit en ADN complémentaire (ADNc). Le test utilise l'amplification isotherme médiée par des boucles (LAMP) pour une amplification rapide, hautement spécifique et sensible des acides nucléiques, avec détection par bioluminescence du produit amplifié.

Le kit de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now est destiné à une utilisation en laboratoire par des professionnels formés aux techniques de laboratoire. Neogen n'a pas documenté l'utilisation de ce produit dans des secteurs autres que l'alimentaire ou les boissons. Par exemple, Neogen n'a pas documenté l'utilisation de ce produit dans le cadre de tests sur des échantillons pharmaceutiques, cosmétiques, cliniques ou vétérinaires. Le kit de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now n'a pas été évalué avec tous les environnements de production alimentaires ni avec toutes les souches de Listeria possibles. Neogen recommande d'évaluer la méthode dans l'environnement de l'utilisateur en employant un nombre suffisant d'échantillons afin de tenir compte des facteurs environnementaux particuliers et de s'assurer que la méthode réponde aux critères de l'utilisateur.

Utilisez le contrôle de matrice Neogen® Right Now™ (RNMC96) pour démontrer la fiabilité du test dans l'environnement de l'utilisateur lors de la mise en place de la méthode ou de sa vérification.

L'instrument de détection moléculaire Neogen®est destiné à être utilisé avec des échantillons ayant subi un traitement thermique lors de l'étape de lyse, laquelle permettant de lyser les cellules et de libérer les acides nucléiques des organismes présents dans l'échantillon. Les échantillons qui n'ont pas subi un traitement thermique adéquat lors de l'étape de lyse peuvent être considérés comme présentant un risque biologique potentiel et ne doivent PAS être introduits dans l'instrument de détection moléculaire Neogen.

Neogen Sécurité Alimentaire est certifié ISO (International Organization for Standardization) 9001 pour la conception et de fabrication de ses produits.

Le kit de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now contient suffisamment de réactifs pour 96 tests, comme indiqué dans le Tableau 1.

Tableau 1. Composants du kit

Élément	Identification	Quantité	Contenu	Commentaires
Ecouvillon Right Now™	Tubes à bouchon bleu avec écouvillons en polyuréthane	96 écouvillons	Écouvillon pré-humidifié avec 1,5 mL de solution d'échantillonnage	Prêt à l'emploi
Solution de résuspension du réactif de lyse Right Now™	Flacons en plastique transparent	2 flacons (chacun permettant de reconstituer deux flacons de réactif de lyse)	Solution de résuspension	Prêt à l'emploi
Réactif de lyse Right Now™	Flacons en verre transparent	4 flacons (une fois reconstitué, chacun peut remplir 28 tubes de lyse)	Réactif de lyse	Lyophilisé
Tubes de lyse (LS)	Tubes transparents	96 (12 bandes de 8 tubes chacune)	Vide	Sur portoir et prêts à l'emploi
Tubes de réactifs *Listeria* Right Now™	Tubes transparents avec bille bleue	96 (3 sachets contenant 4 bandes de 8 tubes)	Mélange d'amplification et détection spécifique, lyophilisé	Prêt à l'emploi
Bouchons supplémentaires	Bouchons transparents	96 (12 bandes de 8 bouchons)		Prêt à l'emploi
Contrôle de réactif (RC) Right Now™	Tubes « Flip-Top » transparents	16 (2 pochettes de 8 tubes individuels)	Mélange d'acide nucléique de contrôle d'amplification et de détection lyophilisé	Prêt à l'emploi

Sécurité

L'utilisateur doit lire, comprendre et respecter toutes les consignes de sécurité figurant dans les instructions relatives au système de détection moléculaire Neogen et au kit de détection moléculaire Neogen *Listeria* Right Now. Conservez les consignes de sécurité pour référence ultérieure.

AVERTISSEMENT :	Indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner la mort ou des blessures graves et/ou des dommages matériels.
ATTENTION :	Indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner des blessures légères ou modérées et/ou des dégâts matériels.

AVERTISSEMENT

Ne pas utiliser le test de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now™ pour établir un diagnostic clinique de la listériose chez l'homme ou l'animal.

L'utilisateur doit former son personnel aux techniques d'analyse actuelles appropriées, par exemple : Good Laboratory Practices[1], ISO 7218:2024[2] ou Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) du CDC[3].

Le kit de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now n'est pas conçu pour l'échantillonnage de surfaces souillées ni pour l'analyse de matrices alimentaires.

Pour réduire les risques associés à un résultat faussement négatif entraînant l'utilisation de surfaces contaminées :

- Se conformer au protocole et effectuer les tests en suivant exactement les instructions relatives au produit.
- Toujours appliquer les bonnes pratiques de laboratoire lors du transfert des échantillons et des réactifs au cours de la procédure.
- Conserver Le kit de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now conformément aux indications figurant sur l'emballage et dans les instructions relatives au produit.
- Toujours utiliser Le kit de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now avant sa date d'expiration.
- Toujours utiliser les écouvillons fournis dans le kit. Ne pas utiliser d'écouvillons autres que ceux du kit.
- L'écouvillon Right Now est à usage unique.
- Ne pas faire de pause une fois que la réhydratation des billes de réactif a commencé. MDALRN96 ne permet pas d'interrompre la procédure à aucune étape.
- Il est fortement recommandé d'informer le personnel de laboratoire féminin des risques pour le fœtus en développement en cas d'infection de la mère suite à une exposition à Listeria monocytogenes.

Afin de réduire les risques associés à l'exposition aux produits chimiques et aux dangers biologiques :

- Effectuer les tests pathogènes dans un laboratoire correctement équipé et sous la supervision d'un personnel qualifié.
- Après le prélèvement, les utilisateurs doivent nettoyer la surface en contact avec les aliments pour éliminer toute solution d'écouvillonnage résiduelle.

Afin de réduire les risques associés à la contamination croisée lors de la préparation de l'analyse :

- Toujours porter des gants (afin de protéger l'utilisateur et d'éviter l'introduction de nucléases).

Afin de réduire les risques associés à la contamination de l'environnement :

- Respecter les réglementations locales, régionales et nationales en matière de mise au rebut.

ATTENTION

Afin de réduire les risques associés à l'exposition à des liquides chauds :

- Ne pas dépasser la température recommandée sur le bloc chauffant.
- Ne pas dépasser le temps de chauffage recommandé.
- Utiliser un thermomètre approprié et étalonné afin de vérifier la température de l'insert du bloc chauffant de détection moléculaire Neogen® (par exemple, un thermomètre à immersion partielle ou un thermomètre à thermocouple numérique, et non pas un thermomètre à immersion totale). Le thermomètre doit être placé à l'emplacement prévu dans l'insert du bloc chauffant de détection moléculaire Neogen.

Afin de réduire les risques associés à la contamination croisée lors de la préparation de l'analyse :

- Changer de gants avant l'hydratation des billes de réactifs.
- Il est recommandé d'utiliser des pointes de pipette extra-longues, stériles, avec barrière anti-aérosol (filtre) et de qualité biologie moléculaire.
- Utiliser une nouvelle pointe de pipette pour chaque transfert d'échantillon.
- Utiliser les bonnes pratiques de laboratoire pour transférer l'échantillon dans le tube de lyse. Pour éviter la contamination croisée entre les échantillons, l'utilisateur peut choisir de nettoyer la tige de la pipette avec une lingette imbibée d'eau de Javel à 10 %, puis d'essuyer avec une serviette en papier propre ou d'utiliser des pointes de pipette extra-longues.
- Utiliser un poste de travail de biologie moléculaire équipé d'une lampe germicide, le cas échéant.
- Décontaminer périodiquement les paillasses et le matériel de laboratoire (pipettes, outils d'ouverture/fermeture, portoir de tubes à réactifs, etc.) avec une solution d'eau de Javel à base de chlore 1 à 5 % (v:v dans de l'eau) ou une solution d'élimination des acides nucléiques.

Afin de réduire les risques associés à un faux positif :

- Ne jamais ouvrir les tubes de réactifs après l'amplification.
- Toujours éliminer les tubes contaminés en les faisant tremper dans une solution d'eau de Javel à base de chlore à 1 à 5 % (v:v dans l'eau) (contenant de l'hypochlorite de sodium) pendant une heure, à l'écart de la zone de préparation du test.
- Ne jamais autoclaver les tubes de réactifs après amplification.

Consultez la fiche de données de sécurité pour des informations supplémentaires ainsi que les réglementations locales, régionales et nationales concernant l'élimination des déchets.

Pour toute question sur des applications ou procédures spécifiques, veuillez consulter notre site Web neogen.com ou contactez votre représentant ou distributeur Neogen local.

Responsabilité de l'utilisateur

Les utilisateurs sont tenus de se familiariser avec les instructions et les informations relatives au produit. Visitez notre site web neogen.com ou contactez votre représentant ou distributeur Neogen local pour plus d'informations.

Lors du choix d'une méthode d'analyse, il est important de prendre en compte que des facteurs externes tels que les méthodes d'échantillonnage, les protocoles de test, la préparation et la manipulation des échantillons, les techniques de laboratoire et l'échantillon lui-même peuvent influencer les résultats.

Lors du choix de tout produit ou méthode, il est de la responsabilité de l'utilisateur d'évaluer un nombre suffisant d'échantillons avec les matrices et les charges microbiennes appropriées afin de vérifier que la méthode d'analyse choisie répond à ses critères.

Il est également de la responsabilité de l'utilisateur de déterminer que toute méthode d'analyse et ses résultats répondent aux exigences de ses clients et fournisseurs.

Comme pour toute méthode d'analyse, les résultats obtenus suite à l'utilisation d'un produit Neogen Sécurité Alimentaire ne constituent pas une garantie de la qualité des échantillons ou des procédés testés.

Afin d'aider les clients à évaluer l'adéquation de la méthode à l'usage prévu lors de sa mise en œuvre, Neogen a développé le kit de contrôle de matrice Neogen® Molecular Detection – Right Now (également appelé « contrôle d'amplification » dans la norme ISO 24914:2026[4]). Utiliser le contrôle de matrice Right Now (RNMC96) pour évaluer l'interférence de la matrice avec les résultats du test de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now lors de la validation et de la vérification. Respecter la norme ISO 16140-3:2021[5] et/ou le programme d'assurance qualité de votre établissement afin de déterminer le nombre représentatif d'échantillons requis au moment de la vérification des performances de la méthode et de la définition de son champ d'application au sein de votre laboratoire. L'utilisation systématique du contrôle de matrice Right Now n'est pas requise une fois que la méthode a été vérifiée et que le champ d'application du laboratoire a été établi. Suivre le programme d'assurance qualité de votre établissement afin de déterminer au cas par cas la nécessité du contrôle de matrice Neogen Right Now et sa fréquence d'utilisation lors des tests de routine.

Limitation des garanties / Recours limité

SAUF MENTION EXPRESSE DANS UNE SECTION DE GARANTIE LIMITÉE DE L'EMBALLAGE D'UN PRODUIT INDIVIDUEL, NEOGEN DÉCLINE TOUTE GARANTIE EXPRESSE ET IMPLICITE, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, TOUTE GARANTIE DE QUALITÉ MARCHANDE OU D'ADÉQUATION À UN USAGE PARTICULIER. Si un produit Neogen Sécurité Alimentaire est défectueux, Neogen ou son distributeur agréé remplacera ou remboursera le prix d'achat du produit, à sa discrétion. Ce sont vos recours exclusifs. Vous devez informer rapidement Neogen dans les soixante jours suivant la découverte de tout défaut suspecté dans un produit et retourner ce dernier à Neogen. Pour toute question supplémentaire, veuillez contacter votre représentant Neogen Sécurité Alimentaire ou votre distributeur agréé Neogen.

Limitation de la responsabilité de Neogen

NEOGEN NE SERA PAS RESPONSABLE DES PERTES OU DOMMAGES ÉVENTUELS, QU'ILS SOIENT DIRECTS, INDIRECTS, SPÉCIFIQUES, ACCIDENTELS OU CONSÉCUTIFS, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, LES PERTES DE PROFITS. En aucun cas, la responsabilité de Neogen en vertu d'une théorie juridique ne pourra excéder le prix d'achat du produit prétendument défectueux.

Pour connaître l'intégralité des conditions générales de Neogen, veuillez consulter : neogen.com/en/terms-and-conditions/

Stockage et mise au rebut

Conserver Le kit de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Conserver le kit à l'abri de la lumière.

Une fois le kit ouvert, vérifier que les sachets en aluminium et les flacons en plastique et en verre sont intacts. Si le contenu du kit est endommagé, ne pas l'utiliser.

Après ouverture, les tubes de réactifs non utilisés doivent toujours être conservés dans le sachet refermable avec le déshydratant à l'intérieur afin de maintenir la stabilité des réactifs lyophilisés. Conserver les sachets refermés à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant un maximum de 60 jours.

Après utilisation, reboucher soigneusement la solution de remise en suspension du réactif de lyse Right Now™.

La solution de lyse Right Now™, une fois reconstituée, peut être conservée à une température de 2 à 8 °C pendant une durée maximale de 21 jours.

Si nécessaire, le bouchon de la solution de lyse peut être scellé avec du Parafilm®.

Ne pas utiliser Le kit de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now après la date d'expiration. La date d'expiration et le numéro de lot sont indiqués sur l'étiquette extérieure de la boîte.

Une fois les analyses terminées, respecter les réglementations locales, régionales et nationales relatives à l'élimination des déchets contaminés. Consulter la fiche de données de sécurité pour plus d'informations.

Instructions spécifiques pour les méthodes validées

Certificat AOAC® *Performance Tested Methods*℠ (PTM) n° 042604

Cette méthode a obtenu la certification AOAC® *Performance Tested Methods*℠ (PTM). Dans le cadre des programmes PTM℠ de l'AOAC Research Institute, il a été démontré que le test Neogen Molecular Detection Assay-*Listeria* Right Now™ constituait une méthode efficace pour détecter les espèces de *Listeria* viables et non viables sur des surfaces en acier inoxydable (jusqu'à 4 po × 4 po).

Instructions d'utilisation

Suivre attentivement toutes les instructions. Le non-respect de cette consigne peut entraîner des résultats inexacts.

Décontaminer périodiquement les paillasses et le matériel de laboratoire (pipettes, outils d'ouverture/fermeture, portoir de tubes à réactifs, etc.) avec une solution d'eau de Javel à base de chlore 1 à 5 % (v:v dans de l'eau) ou une solution d'élimination des acides nucléiques.

L'utilisateur doit suivre la formation de qualification destinée à l'opérateur du système de détection moléculaire Neogen®, comme décrit dans le document « Protocoles et instructions de qualification de l'installation (IQ)/qualification opérationnelle (OQ) du système de détection moléculaire Neogen »[6].

1. Préparation de l'écouvillon Right Now™

1.1 Étiqueter le tube de l'écouvillon Right Now avec l'identifiant de l'échantillon (ID).

1.2 Secouer le tube de l'écouvillon Right Now vers le bas deux fois d'un coup sec pour amener la solution d'échantillonnage au fond du tube.

1.3 Ouvrir le tube d'échantillonnage Right Now et exercer une pression de l'écouvillon contre la paroi interne du tube pour éliminer l'excès de solution d'échantillonnage.

1.4 Aseptiquement, vider l'excès de solution d'échantillonnage du tube.

1.5 Remettre l'écouvillon Right Now dans le tube vide.

2. Prélèvement d'un échantillon

2.1. Prélever l'échantillon de surface en écouvillonnant horizontalement, verticalement et en diagonale afin de couvrir entièrement la zone à tester (1 × 1 po à 12 × 12 po, 2,5 × 2,5 cm à 30 × 30 cm). Retourner l'écouvillon Right Now sur l'autre côté et écouvillonner à nouveau la même surface de prélèvement.

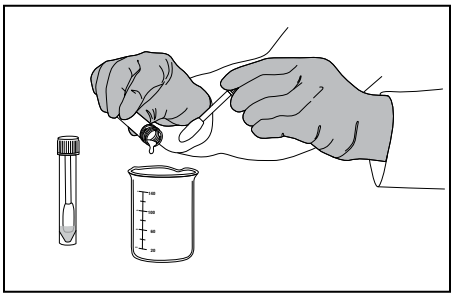
2.2. Remettre l'écouvillon Right Now dans le tube vide.

2.3. Conserver les écouvillons à 2-8 °C si les tests ne sont pas effectués immédiatement. L'écouvillon Right Now peut être conservé jusqu'à 24 heures à 2-8 °C avant analyse. La conservation des échantillons n'entre pas dans le champ d'application de la validation AOAC.

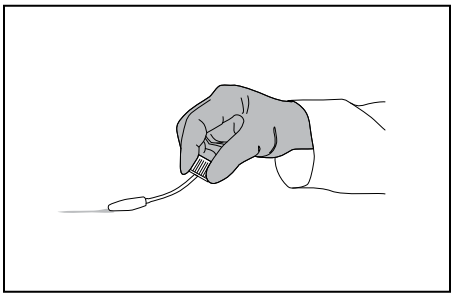
3. Préparation de la solution de lyse Right Now™ (enzyme lytique)

3.1. Reconstituer un flacon de réactif de lyse Right Now™ contenant l'enzyme lytique lyophilisée avec 28 mL de solution de résuspension Right Now.™ Mélanger doucement le contenu du flacon en effectuant un mouvement circulaire. Laisser la solution de lyse revenir à température ambiante avant utilisation.

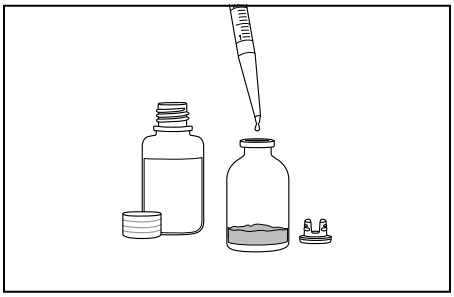
REMARQUE : La solution de lyse réhydratée peut être conservée à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant 21 jours. Inscrire la date de préparation de l'enzyme lytique sur le flacon.



Vider aseptiquement l'excès de solution d'échantillonnage du tube avant d'écouvillonner.



Échantillonner la surface en effectuant un prélèvement horizontal, vertical et en diagonale afin de couvrir entièrement la zone de test (1×1 po à 12×12 po). Retourner l'écouvillon Right Now sur l'autre côté et écouvillonner la même surface de prélèvement.



Reconstituer un flacon de réactif de lyse (enzyme lytique lyophilisée) avec 28 mL de solution de résuspension de réactif de lyse. Mélanger doucement le contenu du flacon en effectuant un mouvement circulaire. Laisser la solution de lyse revenir à température ambiante avant utilisation.

Préparation de l'équipement

4. Préparation du plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen®

4.1 Humidifier un chiffon ou une serviette jetable à l'aide d'une solution d'eau de Javel à 1-5 % (v:v dans de l'eau) et nettoyer le plateau du chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen.

4.2 Rincer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen à l'eau.

4.3 Essuyer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen à l'aide d'une serviette jetable.

4.4 Veiller à ce que le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen soit sec avant de l'utiliser.

Deux inserts pour bloc chauffant/refroidissant de détection moléculaire Neogen sont nécessaires pour cette procédure. Les deux inserts correspondent au même produit (700000145), mais sont utilisés pour des usages différents.

Pour faciliter la compréhension de la procédure, l'insert utilisé pour l'étape de chauffage sera appelé « insert bloc chauffant pour détection moléculaire», et celui utilisé pour l'étape de refroidissement « insert refroidissant pour détection moléculaire ». Ces désignations ont pour seul but de distinguer leurs usages et n'indiquent pas qu'il s'agit de produits distincts.

5. Préparation du bloc refroidissant pour détection moléculaire Neogen®

5.1 Placer l'un des inserts métalliques pour détection moléculaire Neogen directement sur la paillasse du laboratoire pour l'étape de refroidissement. Utiliser l'insert à température ambiante du laboratoire.

6. Préparation du bloc chauffant pour détection moléculaire Neogen®

6.1 Placer l'autre insert métallique pour détection moléculaire Neogen dans un bloc chauffant double. Allumer le bloc chauffant double et réglez la température de sorte que l'insert de détection moléculaire Neogen atteigne et maintienne une température de 100 ± 1 °C.

REMARQUE : Selon le bloc chauffant, attendre environ 30 minutes pour que l'insert atteigne la température. Utiliser un thermomètre étalonné approprié (p. ex., un thermomètre à immersion partielle ou un thermomètre à thermocouple numérique, et non pas un thermomètre à immersion totale) placé à l'emplacement désigné pour vérifier que la température de l'insert du bloc chauffant pour détection moléculaire Neogen est de 100 ± 1 °C.

7. Préparation de l'instrument de détection moléculaire Neogen®

7.1 Lancez le logiciel de détection moléculaire Neogen® et connectez-vous. Contactez votre représentant Neogen Food Safety pour vous assurer que vous disposez de la version la plus récente du logiciel.

7.2 Allumer l'instrument de détection moléculaire Neogen.

7.3 Créer une nouvelle série ou modifier une série en sélectionnant un puits pour chaque échantillon. Référez vous au manuel d'utilisation du système de détection moléculaire Neogen pour plus de détails.

7.4 Pour le test *Listeria* Right Now (LRN), sélectionner l'icône LRN dans le logiciel Neogen du système de détection moléculaire et l'assigner à chaque puits.

7.5 Assigner respectivement les icônes LRN NC et LRN RC aux puits correspondants dans la série pour le contrôle négatif et le contrôle de réactif.

7.6. Un LRN NC est configuré pour chaque série et un LRN RC est configuré pour le kit.

REMARQUE : L'instrument de détection moléculaire Neogen doit atteindre et maintenir une température de 60 °C avant d'insérer le plateau de chargement rapide contenant les tubes de réaction. Cette étape de chauffage prend environ 20 minutes et est indiquée par un voyant lumineux ORANGE sur la barre d'état de l'instrument. Lorsque l'instrument est prêt pour l'analyse, la barre d'état devient VERTE.

8. Lyse pour le test *Listeria* Right Now™

8.1 Transférer 1 mL de la solution de lyse Right Now™ préparée à l'étape 3.1 dans l'écouvillon Right Now utilisé pour prélever l'échantillon (section 2). Éviter de toucher les parois du tube de l'écouvillon Right Now. Changer de pointe de pipette pour chaque échantillon afin d'éviter la contamination de la solution de lyse.

REMARQUE : Remettre la solution de lyse restante au réfrigérateur après utilisation (dans l'heure qui suit).

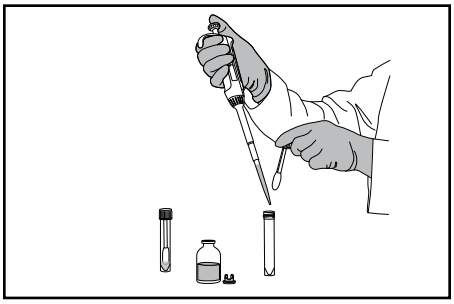
8.2 Refermer le tube. Vortexer vigoureusement le tube pendant 5 à 10 secondes pour extraire l'échantillon de l'écouvillon Right Now.

8.3 Placer le nombre nécessaire de tubes de lyse individuels dans un portoir vide. Un tube de lyse vide est nécessaire pour chaque échantillon à tester. Toujours inclure un tube de lyse vide supplémentaire pour le témoin négatif (NC).

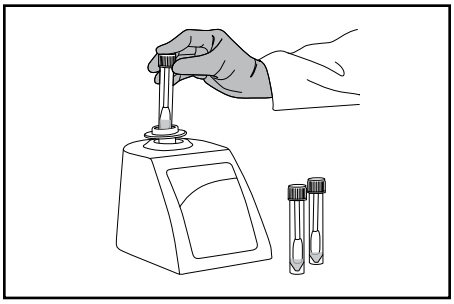
8.4 Retirer l'écouvillon Right Now du tube préparé à l'étape 8.1 et le poser sur son bouchon sur la paillasse. Éviter de toucher l'écouvillon pour prévenir toute contamination.

8.5 Transférer 500 µL à partir de chaque tube d'écouvillon Right Now dans un tube de lyse vide correspondant en utilisant une pointe de pipette extra-longue. Remettre l'écouvillon dans le tube et refermer.

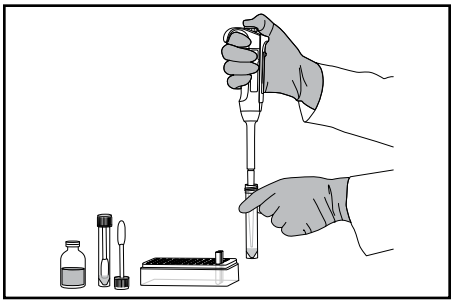
REMARQUE : Il est recommandé d'utiliser des pointes de pipette extra-longues (plus longues que les pointes standards). Si la tige de la pipette touche le les parois du tube de l'écouvillon Right Now, éjecter la pointe, puis nettoyer soigneusement la tige de la pipette avec une lingette imbibée d'eau de Javel à 1-5 % pour éviter toute contamination croisée entre échantillons.



Transférer 1 mL de la solution de lyse Right Now™ dans l'écouvillon Right Now™ utilisé pour prélever l'échantillon. Éviter de toucher les parois du tube d'écouvillon.



Reboucher le tube. Vortexer vigoureusement le tube d'écouvillon pendant 5 à 10 secondes pour extraire l'échantillon de l'écouvillon.



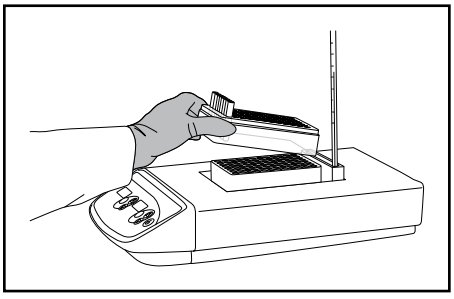
Transférer 500 µL de chaque tube d'écouvillon dans le tube de lyse vide correspondant en utilisant un embout de pipette extra-long.

8.6 Une fois tous les échantillons transférés, préparer le NC en transférant 500 µL de solution de lyse (préparée en 3.1) dans un tube de lyse vide. Ne pas utiliser d'eau comme contrôle négatif.

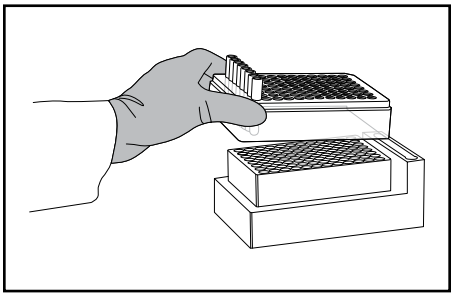
8.7 Vérifiez que la température de l'insert du bloc chauffant pour détection moléculaire Neogen est à 100 ± 1 °C.

8.8 **Étape de chauffage :** Placer le portoir de tubes de lyse à découvert, sans rien dessus, sur l'insert du bloc chauffant pour détection moléculaire Neogen et chauffer pendant 10 ± 1 minute. Pendant le chauffage, le lysat peut devenir trouble.

8.9 **Étape de refroidissement :** Retirer le portoir des tubes de lyse (non couvert) du bloc chauffant et le laisser refroidir sur l'insert refroidissant pendant au moins 5 minutes et un maximum de 60 minutes.L'insert refroidissant pour détection moléculaire Neogen, utilisé à température ambiante, doit être posé directement sur la paillasse du laboratoire. Une fois refroidi, le lysat doit être clair.



Placer le portoir de tubes de lyse non couvert, sur l'insert du bloc chauffant Neogen et chauffer pendant 10 ± 1 minute. Pendant le chauffage, le lysat peut devenir trouble.



Retirer le portoir des tubes de lyse (non couvert) du bloc chauffant et le laisser refroidir sur l'insert refroidissant pendant au moins 5 minutes et un maximum de 60 minutes.

9. Amplification

9.1 Un tube de réactif du kit de détection moléculaire Neogen – *Listeria* Right Now est nécessaire pour chaque échantillon et pour le NC.

9.1.1 Les bandes de tubes de réactif peuvent être coupées pour obtenir le nombre de tubes souhaité. Sélectionner le nombre de tubes de réactifs individuels ou de bandes de 8 tubes nécessaires.

9.1.2 Éviter d'agiter les billes de réactif au fond des tubes.

9.2 Sortir un tube de contrôle de réactif (RC) *Listeria* Right Now de son emballage et le placer sur le portoir.

9.3 Pour le lysat LRN NC, sélectionner et placer un tube de réactif *Listeria* Right Now dans le même portoir.Pour éviter toute contamination croisée, n'ouvrir qu'une seule bande de tubes réactifs à la fois et utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque transfert.

9.4 Transférer les lysats dans un tube de réactif *Listeria* Right Now comme décrit ci-dessous.

9.5 Ouvrir les tubes de réactif, une bande à la fois, en utilisant l'outil d'ouverture/fermeture pour tubes de réactif de détection moléculaire Neogen®. Jetez la bande de bouchons.

9.5.1 Prélever 50 µL de lysat d'échantillon depuis la moitié supérieure du liquide du tube de lyse (en évitant tout précipité) et transférer dans le tube réactif Neogen *Listeria* Right Now. Incliner la pipette pour délivrer le liquide afin de ne pas perturber les billes de réactifs. Mélangez en pipetant doucement de haut en bas 5 fois.

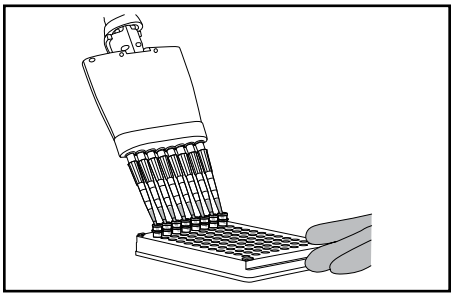
9.5.2 Répéter l'étape 9.5.1 jusqu'à ce que le lysat de chaque échantillon ait été ajouté à un tube de réactif de la bande.

9.5.3 Reboucher les tubes de réactif avec les bouchons supplémentaires fournis et utiliser le côté arrondi de l'outil Neogen d'ouverture / fermeture pour exercer une pression en va-et-vient, en s'assurant que la bande de bouchons est bien appliquée.

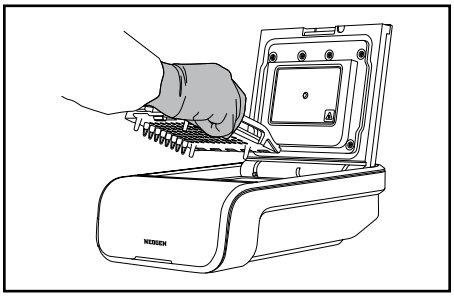
9.5.4 Répéter les étapes 9.5.1 à 9.5.3 autant de fois que nécessaire en fonction du nombre d'échantillons à tester.

9.5.5 Une fois que tous les lysats d'échantillons ont été transférés, transférer 50 µL du lysat NC dans un tube réactif *Listeria* Right Now. Mélanger en pipetant doucement de haut en bas 5 fois.

9.5.6 Enfin, transférer 50 µL de lysat NC dans un tube de contrôle de réactif Right Now™ (RC). Mélanger en pipetant doucement de haut en bas 5 fois.



Transférer 50 µl de lysat d'échantillon à partir de la moitié supérieure du tube de lyse vers le tube de réactif LRN. Incliner la pipette pour délivrer le liquide afin de ne pas perturber les billes de réactifs. Mélanger en pipetant doucement de haut en bas 5 fois.



Charger les tubes fermés dans un plateau de chargement rapide propre et décontaminé. Fermer le plateau et le placer dans le système de détection moléculaire (MDS) Neogen. Fermer le couvercle pour lancer l'essai.

9.6 Charger les tubes fermés dans le plateau de chargement rapide Neogen, propre et décontaminé. Fermer et verrouiller le couvercle du plateau de chargement rapide de détection moléculaire Neogen.

9.7 Vérifier et confirmer la configuration de l'analyse dans le logiciel du système de détection moléculaire Neogen.

9.8 Cliquer sur le bouton Démarrer dans le logiciel et sélectionner l'instrument à utiliser. Le couvercle de l'instrument sélectionné s'ouvre automatiquement.

9.9 Placer le plateau de chargement rapide dans l'instrument de détection moléculaire Neogen et fermer le couvercle pour commencer l'analyse. Les résultats sont obtenus en 45 minutes, bien que les résultats positifs puissent être détectés plus tôt.

9.10 Une fois l'analyse terminée, retirer le plateau de chargement rapide de l'instrument de détection moléculaire de Neogen et éliminer les tubes en les faisant tremper dans une solution d'eau de Javel à base de chlore à 1-5 % (v:v dans de l'eau) pendant une heure et à l'écart de la zone de préparation du test.

REMARQUE : Pour réduire le risque de faux positifs dus à une contamination croisée, n'ouvrez jamais les tubes de réactif contenant de l'ADN amplifié. Éliminer toujours les tubes de réactif scellés en les faisant tremper dans une solution d'eau de Javel à base de chlore à 1-5 % (v:v dans l'eau) pendant une heure et à l'écart de la zone de préparation du test.

Résultats et interprétation

Un algorithme interprète la courbe du signal lumineux résultant de la détection de l'amplification des acides nucléiques. Les résultats sont automatiquement analysés par le logiciel et sont codés par couleur en fonction du résultat. Un résultat positif ou négatif est déterminé par l'analyse d'un certain nombre de paramètres de courbe uniques. Les résultats positifs sont affichés en temps réel, tandis que les résultats négatifs s'affichent après la fin de l'analyse.

REMARQUE : Même un échantillon négatif ne donnera pas une lecture d'unité de lumière relative (RLU) nulle car le système et les réactifs d'amplification du kit de détection moléculaire de Neogen – *Listeria* Right Now émettent un signal lumineux de fond.

Tableau 2 : Symboles des résultats des échantillons et l'interprétation fournis par le logiciel du système de détection moléculaire Neogen.

Type de puits	Symbole du résultat du puits	Résultat	Interprétation
Échantillon		Positif	L'échantillon est positif pour *Listeria* spp.
Échantillon		Négatif	L'échantillon est négatif pour *Listeria* spp.
Échantillon		Inhibé	La matrice de l'échantillon était inhibitrice pour le test. Un nouveau test peut être nécessaire.
Échantillon		Erreur	Aucune bioluminescence n'a été détectée. Un nouveau test peut être nécessaire.

*Veuillez vous référer au rapport d'analyse pour plus de détails sur les résultats. Si nécessaire, contactez votre représentant Neogen local pour obtenir une assistance technique.Références

Confirmation

Les résultats présumés positifs obtenus avec cette méthode ne peuvent pas être confirmés. L'utilisateur final peut mettre en oeuvre le protocole de nettoyage approprié et refaire le test. Ou, si une colonie isolée est requise, prélever à nouveau un échantillon de la zone testée et effectuer le test en utilisant les procédures de culture décrites dans le chapitre 10[7] du BAM de la FDA ou ISO 11290-1[8].

Références

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. NF EN ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
3. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
4. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
5. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.
7. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 10: Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods (April 22)
8. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 1: Detection method, https://www.iso.org/standard/60313.html

Explication des symboles

www.neogen.com/foodsafety/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
Auchincruive House
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Produktanweisungen

Neogen® Molekularer Detektionstest – *Listeria* Right Now™

Produktbeschreibung und Verwendungszweck

Der Neogen Molekulare Detektions-Assay – *Listeria* Right Now (MDALRN96)-Kit wird in Verbindung mit dem Neogen® Molekularen Detektionssystem zum schnellen und spezifischen Nachweis von lebensfähigen und nicht lebensfähigen *Listeria* spp. in Proben von sichtbar sauberen Oberflächen nach der Reinigung/Desinfektion und vor der Produktion verwendet, ohne dass eine Anreicherung erforderlich ist. Es verwendet den mitgelieferten Neogen Right Now™ Probenehmer, der mit einer Probenahmelösung befeuchtet wurde, um *Listerien* in der Umgebung von Lebensmittel- und Getränkeherstellungsanlagen zu überwachen. Diese Methode liefert lediglich vorläufige Ergebnisse und ist nicht zur Bestätigung konzipiert.

Dieser Test weist ribosomale RNA (rRNA) auf Oberflächen in der Umgebung nach, was auf das Vorhandensein des Zielmikroorganismus hindeutet. Da rRNA auch dann noch vorhanden sein kann, wenn der Organismus bereits nicht mehr lebensfähig ist, kann diese Methode positive Ergebnisse liefern, wenn der Organismus mit herkömmlichen kulturbasierten Methoden, die nur lebende Zellen nachweisen, nicht mehr isoliert werden kann. Der Assay verwendet den mitgelieferten Neogen Right Now™ Probenehmer, der mit einer Probenahmelösung befeuchtet wurde, um Listerien in Umfeld von Lebensmittel- und Getränkeherstellungsanlagen zu überwachen.

Das Screening-Kit enthält Reagenzröhrchen mit blauen, farbcodierten, lyophilisierten Pellets zum Nachweis von *Listeria*-Spezies.

Nach der Probenentnahme mit dem Right Now Probenehmer wird der Inhalt lysiert, um Nukleinsäuren freizusetzen. Die ribosomale RNA wird dann in komplementäre DNA (cDNA) revertiert. Der Assay verwendet eine Loop-vermittelte isotherme Amplifikation (LAMP) für eine schnelle, hochspezifische und empfindliche Nukleinsäureamplifikation mit biolumineszierender Detektion des amplifizierten Produkts.

Der Neogen Molekulare Detektions-Assay – *Listeria* Right Now ist vorgesehen für die Verwendung in einer Laborumgebung durch Fachkräfte, die in Labortechniken geschult sind. Neogen hat die Verwendung dieses Produkts in anderen Branchen als der Lebensmittel- oder Getränkeindustrie nicht dokumentiert. Zum Beispiel hat Neogen dieses Produkt nicht für die Prüfung von Pharma-, Kosmetik-, klinischen oder veterinärmedizinischen Proben dokumentiert. Der Neogen Molekulare Detektions-Assay – *Listeria* Right Now wurde nicht in allen möglichen Umgebungen der Lebensmittelverarbeitung oder mit allen möglichen Stämmen von *Listeria* getestet. Neogen empfiehlt die Prüfung der Methode in der Umgebung des Benutzers unter Verwendung einer ausreichenden Anzahl von Proben für bestimmte Umgebungsbedingungen, um sicherzustellen, dass die Methode die Kriterien des Benutzers erfüllt.

Verwenden Sie die gekoppelte Neogen® Right Now™ Matrix Control (RNMC96), um die Robustheit des Assays in der Benutzerumgebung bei der Implementierung der Methode oder bei der Methodenverifizierung zu demonstrieren.

Das Neogen® Molekulare Detektionsinstrument ist für den Einsatz mit Proben vorgesehen, die während des Assay-Lyseschritts einer Wärmebehandlung unterzogen wurden, die darauf ausgelegt ist, die Zellen zu lysieren und die Nukleinsäuren aus den in der Probe vorhandenen Organismen freizusetzen. Proben, die im Rahmen des Nachweises während des Lyseschritts nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt wurden, sind als potenziell biogefährlich einzustufen und dürfen NICHT in das Molekulare Detektionsgerät von Neogen eingesetzt werden.

Neogen Food Safety ist gemäß der Norm ISO 9001 der International Organization for Standardization für Design und Fertigung zertifiziert.

Der Neogen Molekulare Detektionstest – *Listeria* Right Now Testkit enthält genügend Reagenzien für 96 Tests, wie in Tabelle 1 beschrieben.

Tabelle 1. Komponenten des Kits

Artikel	Merkmale	Menge	Inhalt	Kommentare
Right Now™ Probenehmer	Röhrchen mit blauem Deckel und Polyurethan-Probenehmern	96 Probenehmer	Probenehmer nass mit 1,5 ml Probenahmelösung	Gebrauchsfertig
Right Now™ Lysereagenz-Resuspensionspuffer	Transparente Plastikflaschen	2 Flaschen (Jede kann zwei Lysepuffer-Reagenzflaschen rekonstituieren)	Resuspensionspuffer	Gebrauchsfertig
Right Now™ Lysepuffer-Reagenz	Transparente Glasflaschen	4 Flaschen (rekonstituiert, jede kann 28 Lyseröhrchen füllen)	Lysereagenz	Lyophilisiert
Lyseröhrchen (LS-Röhrchen)	Klare Sammelröhrchen	96 (12 Streifen à 8 Röhrchen)	Leer	In Gestell und gebrauchsfertig
Listeria Right Now™ Reagenzröhrchen	Transparente Röhrchen mit blauen Pellets	96 (3 Beutel mit 4 Streifen à 8 Röhrchen)	Lyophilisierte spezifische Amplifikations- und Detektionsmischung	Gebrauchsfertig
Zusätzliche Kappen	Durchsichtige Kappen	96 (12 Streifen je 8 Kappen)		Gebrauchsfertig
Right Now™ Reagenzkontrolle (Reagent Control, RC)	Transparente Röhrchen mit Flip-Top	16 (2 Beutel je 8 einzelne Röhrchen)	Lyophilisierte Kontrollnukleinsäure-, Amplifikations- und Nachweismischung	Gebrauchsfertig

Sicherheit

Der Benutzer muss alle Sicherheitsinformationen in den Anweisungen für das Molekulare Detektionssystem von Neogen und den Neogen Molekularen Detektionstest – *Lilsteria* Right Now lesen, verstehen und befolgen. Bewahren Sie die Sicherheitsanweisungen zur späteren Referenz auf.

WARNUNG:	Weist auf eine Gefahrensituation hin, die zu Tod oder schwerwiegenden Verletzungen und/oder Sachschäden führen kann, wenn sie nicht vermieden wird.
VORSICHT:	Weist auf eine Gefahrensituation hin, die zu leichten oder mittelschweren Verletzungen und/oder Sachschäden führen kann, wenn sie nicht vermieden wird.

WARNUNG

Verwenden Sie den Neogen Molekularen Detektionstest – *Listeria* Right Now™ nicht zur klinischen Diagnose von Listeriose bei Mensch oder Tier.

Der Benutzer muss sein Personal in aktuellen ordnungsgemäßen Testtechniken schulen, beispielsweise: „Gute Laborpraxis“[(1)], ISO 7218:2024[(2)] oder „CDC-Leitlinien zur Biosicherheit in mikrobiologischen und biomedizinischen Laboren (BMBL)“[(3)].

Der Neogen Molekulare Detektionstest – *Listeria* Right Now ist nicht für die Probenahme von verschmutzten Oberflächen oder für die Prüfung von Lebensmittelmatrices konzipiert.

Um die mit falsch-negativen Ergebnissen verbundenen Risiken, die zur Nutzung kontaminierter Oberflächen führen können, zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Befolgen Sie das Protokoll und führen Sie die Tests genau gemäß den Angaben in den Produktanweisungen durch.
- Verwenden Sie immer die guten Laborpraktiken, um Proben und Reagenzien während der Durchführung des Verfahrens zu übertragen.
- Lagern Sie den Neogen Molekularen Detektionstest – *Listeria* Right Now wie auf der Verpackung und in den Produktanweisungen angegeben.
- Verwenden Sie den Neogen Molekularen Detektionstest – *Listeria* Right Now immer vor dem Verfalldatum.
- Verwenden Sie immer die im Kit enthaltenen Probenehmer. Verwenden Sie keine Probenehmer aus anderen Quellen.

- Der Right Now Probenehmer ist zum einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Pausieren Sie nicht, sobald die Rehydrierung des Reagenzpellets begonnen hat.
- Es wird dringend empfohlen, weibliches Laborpersonal über das Risiko für den Fötus bei einer Infektion der Mutter durch Kontakt mit *Listeria monocytogenes* zu informieren.

Um die mit einer Exposition gegenüber Chemikalien und Biogefährdung verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Führen Sie Pathogentests in einem ordnungsgemäß ausgestatteten Labor unter der Aufsicht von geschultem Personal durch.
- Benutzer müssen die Oberflächen, die mit Lebensmitteln in Berührung kommen, nach der Probenahme reinigen, um alle Rückstände der Abstrichlösung zu entfernen.

Um die mit einer Kreuzkontamination bei der Vorbereitung des Nachweises verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Tragen Sie stets Handschuhe (um den Benutzer zu schützen und die Einführung von Nukleasen zu vermeiden).

Um die mit einer Umweltkontamination verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Beachten Sie die örtlichen, regionalen und nationalen Vorschriften zur Entsorgung.

VORSICHT

Um die mit einer Exposition gegenüber heißen Flüssigkeiten verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Überschreiten Sie nicht die empfohlene Temperatureinstellung am Heizelement.
- Überschreiten Sie nicht die empfohlene Heizzeit.
- Verwenden Sie ein geeignetes, kalibriertes Thermometer zur Prüfung der Temperatur des Neogen® Heizblockeinsatzes für Molekulare Detektion (z. B. ein Einstechthermometer oder Digitalthermometer mit Thermoelement, kein Tauchthermometer). Das Thermometer muss in die vorgesehene Position im Neogen-Heizblockeinsatz für Molekulare Detektion eingesetzt werden.

Um die mit einer Kreuzkontamination bei der Vorbereitung des Nachweises verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Wechseln Sie die Handschuhe vor der Hydrierung der Reagenz-Pellets.
- Es wird empfohlen, sterile Pipettenspitzen mit langen Spitzen, Aerosolbarriere (gefiltert) und in Molekularbiologiequalität zu verwenden.
- Verwenden Sie für jeden Probentransfer eine neue Pipettenspitze.
- Wenden Sie gute Laborpraxis an, um die Probe in das Lyseröhrchen zu überführen. Um eine Kreuzkontamination zwischen den Proben zu vermeiden, kann der Benutzer den Schaft der Pipette mit einem Tuch mit 10%iger Chlorbleiche und dann mit einem sauberen Papiertuch reinigen oder Pipettenspitzen mit verlängerter Länge verwenden.
- Verwenden Sie einen Labortisch für Molekularbiologie mit einer Entkeimungslampe, sofern verfügbar.
- Dekontaminieren Sie Laborwerkbänke und Geräte (Pipetten, Capper/Decapper Reagenzröhrchenhalter usw.) regelmäßig mit einer 1–5%igen (v:v in Wasser) chlorhaltigen Bleichmittellösung oder Lösung zur Nukleinsäure-Entfernung.

Um die mit falsch-positiven Ergebnissen verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Öffnen Sie niemals Reagenzröhrchen nach der Amplifikation.
- Entsorgen Sie die kontaminierten Röhrchen stets durch einstündiges Einweichen in einer 1–5%igen (v:v in Wasser) chlorhaltigen Bleichmittellösung (die Natriumhypochlorit enthält) abseits des Nachweis-Vorbereitungsbereichs.
- Autoklavieren Sie niemals Reagenzröhrchen nach der Amplifikation.

Beachten Sie das Sicherheitsdatenblatt für weitere Informationen sowie örtliche, regionale sowie nationale Vorgaben für die Entsorgung.

Wenn Sie Fragen zu bestimmten Anwendungen oder Verfahren haben, besuchen Sie bitte unsere Website unter neogen.com oder wenden Sie sich an Ihren örtlichen Neogen-Verkaufsvertreter oder -Händler.

Verantwortung des Benutzers

Es liegt in der Verantwortung des Benutzers, sich mit den Produktanweisungen und -informationen vertraut zu machen. Besuchen Sie unsere Website unter neogen.com oder wenden Sie sich an Ihren lokalen Neogen-Verkaufsvertreter oder -Händler, um weitere Informationen zu erhalten.

Bei der Auswahl einer Testmethode ist es wichtig zu berücksichtigen, dass externe Faktoren wie Probenahmemethoden, Testprotokolle, Probenvorbereitung, Handhabung, Labortechnik und die Probe selbst die Ergebnisse beeinflussen können.

Es liegt in der Verantwortung des Benutzers, bei der Auswahl einer Testmethode oder eines Testprodukts eine ausreichende Anzahl von Proben mit den entsprechenden Matrices und mikrobiellen Belastungstests zu bewerten, um sicherzustellen, dass die gewählte Testmethode die Kriterien des Benutzers erfüllt.

Es liegt auch in der Verantwortung des Benutzers, festzustellen, ob alle Testmethoden und -ergebnisse den Anforderungen seiner Kunden und Lieferanten entsprechen.

Wie bei jeder anderen Testmethode stellen die mit einem Produkt von Neogen Food Safety gewonnen Ergebnisse keine Garantie für die Qualität der getesteten Proben oder Prozesse dar.

Um Kunden dabei zu unterstützen, die Eignung der Methode während der Umsetzung zu bewerten, hat Neogen das Kit für die Neogen® Molekularer Detektionstest – Right Now Matrix Control entwickelt (in ISO 24914:2026 auch als „Amplifikationskontrolle“[4] bezeichnet). Verwenden Sie die Right Now Matrixkontrolle (RNMC96), um während der Validierung und Verifizierung die Beeinflussung der Ergebnisse des Neogen Molekularer Detektionstests – *Listeria* Right Now durch die Matrix zu bewerten. Befolgen Sie die Norm ISO 16140-3:2021[5] und/oder das Qualitätssicherungsprogramm Ihrer Organisation, um die repräsentative Anzahl der Proben zu ermitteln, die zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit der Methode und zur Festlegung ihres Anwendungsbereichs in Ihrem Labor erforderlich ist. Die routinemäßige Verwendung der Right Now Matrixkontrolle ist nicht erforderlich, sobald die Methode validiert und der Anwendungsbereich des Labors festgelegt wurde. Befolgen Sie das Qualitätssicherungsprogramm Ihres Unternehmens, um im Einzelfall zu entscheiden, ob die Neogen Right Now Matrixkontrolle erforderlich ist und wie oft sie bei Routinetests eingesetzt werden soll.

Beschränkte Gewährleistung/Beschränkter Rechtsbehelf

SOFERN NICHT AUSDRÜCKLICH IN EINEM ABSCHNITT ZUR BESCHRÄNKTEN GEWÄHRLEISTUNG AUF DER VERPACKUNG INDIVIDUELLER PRODUKTE ANDERWEITIG ANGEGEBEN, SCHLIESST NEOGEN JEGLICHE AUSDRÜCKLICHE UND STILLSCHWEIGENDE GEWÄHRLEISTUNG AUS, EINSCHLIESSLICH UNTER ANDEREM DIE GEWÄHRLEISTUNG DER MARKTGÄNGIGKEIT ODER EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK. Wenn ein Produkt von Neogen Food Safety defekt ist, wird Neogen oder sein autorisierter Vertriebspartner nach eigenem Ermessen das Produkt ersetzen oder seinen Kaufpreis erstatten. Dies sind Ihre ausschließlichen Rechtsbehelfe. Sie müssen Neogen unverzüglich innerhalb von sechzig Tagen nach Entdeckung vermuteter Mängel an einem Produkt benachrichtigen und das Produkt an Neogen zurücksenden. Bei weiteren Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren Neogen Food Safety-Vertriebsmitarbeiter oder autorisierten Vertreter für Neogen.

Haftungsbeschränkung für Neogen

NEOGEN SCHLIESST DIE HAFTUNG FÜR ETWAIGE VERLUSTE ODER DIREKTE, INDIREKTE, BESONDERE, ZUFÄLLIGE ODER FOLGESCHÄDEN AUS, EINSCHLIESSLICH UNTER ANDEREM ENTGANGENE PROFITE. In keinem Fall übersteigt die Haftung von Neogen nach einer beliebigen Rechtstheorie den Kaufpreis des Produkts, das mutmaßlich fehlerhaft ist.

Vollständige Bestimmungen und Bedingungen finden Sie unter neogen.com/en/terms-and-conditions/

Lagerung und Entsorgung

Lagern Sie den Neogen® Molekularen Detektionstest – *Listeria* Right Now bei 2–8 °C. Nicht einfrieren. Lagern Sie das Kit dunkel.

Überprüfen Sie nach dem Öffnen des Kits, ob der Folienbeutel, die Plastik- und Glasflaschen unbeschädigt sind. Wenn der Inhalt des Kits beschädigt ist, verwenden Sie es nicht.

Nach dem Öffnen müssen unbenutzte Reagenzröhrchen immer im wiederverschließbaren Beutel mit dem Trockenmittel aufbewahrt werden, um die Stabilität der lyophilisierten Reagenzien zu erhalten. Wiederverschlossene Beutel maximal 60 Tage lang bei 2–8 °C lagern.

Verschließen Sie den Right Now™ Lysereagenz-Resuspensionspuffer nach Gebrauch sorgfältig.

Das rekonstituierte Right Now™ Lysepuffer-Reagenz kann verschlossen bei 2–8 °C bis zu 21 Tage lang gelagert werden.

Bei Bedarf kann die Lysepuffer-Reagenz-Schutzkappe zusätzlich mit Parafilm® gesichert werden.

Verwenden Sie den Neogen® Molekularen Detektionstest – *Listeria* Right Now nicht nach dem Verfalldatum. Das Verfalldatum und die Losnummer sind auf dem äußeren Etikett des Kartons vermerkt.

Wenn die Tests abgeschlossen sind, befolgen Sie die lokalen, regionalen und nationalen Bestimmungen für die Entsorgung kontaminierter Abfälle. Weitere Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt.

Spezifische Anweisungen für validierte Methoden

AOAC® *Performance Tested Methods℠* (PTM) Zertifizierung #042604

Diese Methode wurde mit der AOAC® *Performance Tested Methods℠* (PTM)-Zertifizierung ausgezeichnet. Im Rahmen der PTM℠-Programme des AOAC Research Institute hat sich der Neogen Molekulare Detektionstest *Listeria* Right Now™ als wirksame Methode zum Nachweis lebensfähiger und nicht lebensfähiger *Listeria* spp. auf Edelstahloberflächen (bis zu 4” x 4”) erwiesen.

Gebrauchsanweisung

Befolgen Sie alle Anweisungen sorgfältig. Andernfalls kann es zu ungenauen Ergebnissen kommen.

Dekontaminieren Sie Laborwerkbänke und Geräte (Pipetten, Capper/Decapper Reagenzröhrchenhalter usw.) regelmäßig mit einer 1–5%igen (v:v in Wasser) chlorhaltigen Bleichmittellösung oder Lösung zur Nukleinsäure-Entfernung.

Der Benutzer muss die Bedienerqualifikationsschulung (QC) für das Neogen® Molekulare Detektionssystem absolvieren, wie im Dokument „Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System“[6] beschrieben.

1. Vorbereitung des Right Now™ Probenehmers

1.1 Das Right Now Probenahmeröhrchen mit der Probenkennung (ID) beschriften.

1.2 Zweimal auf das Right Now Probenahmeröhrchen klopfen, damit die Probenahmelösung an den Boden des Röhrchens gelangt.

1.3 Das Right Now-Probenahmeröhrchen öffnen und den Probenehmer gegen die Wand des Röhrchens drücken, um überschüssige Probenlösung zu entfernen.

1.4 Die überschüssige Probenlösung aseptisch aus dem Röhrchen gießen.

1.5 Den Right Now Probenehmer wieder in das leere Röhrchen einsetzen.

2. Probenahme

2.1. Proben von der Oberfläche durch horizontales, vertikales und diagonales Tupfen entnehmen, um den gesamten Testbereich abzudecken (2,5 × 2,5 cm bis 30 × 30 cm). Den Right Now Probenehmer auf die andere Seite drehen und einen Abstrich von derselben Oberfläche nehmen.

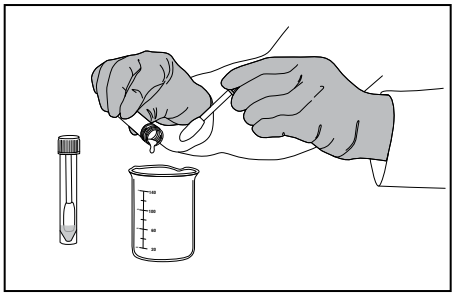
2.2. Den Right Now Probenehmer wieder in das leere Röhrchen einsetzen.

2.3. Die Probenehmer bei 2–8 °C lagern, wenn die Tests nicht sofort erfolgen. Der Right Now Probenehmer kann bis zu 24 Stunden bei 2–8 °C aufbewahrt werden, bevor die Tests erfolgen. Die Probenaufbewahrung fällt nicht in den Geltungsbereich der AOAC-Validierung.

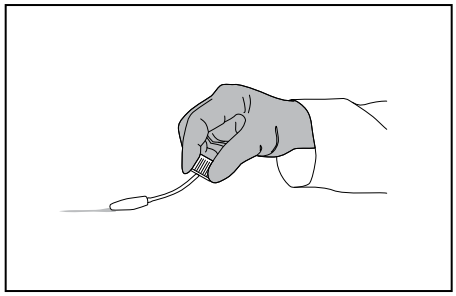
3. Vorbereitung der Right Now™ Lysepuffer-Reagenz (lytisches Enzym)

3.1. Eine Flasche Right Now™ Lysepuffer-Reagenz, die das lyophilisierte lytische Enzym enthält, mit 28 ml des Right Now™ Lysereagenz-Resuspensionspuffers rekonstituieren. Zum Vermischen vorsichtig schwenken. Den Lysepuffer vor der Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

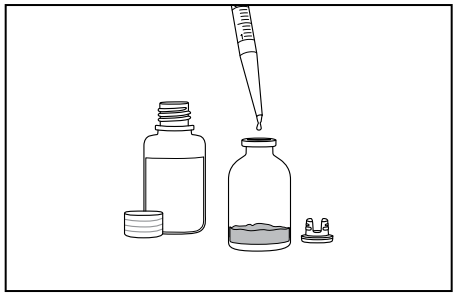
HINWEIS: Rehydrierter Lysepuffer kann 21 Tage lang bei 2–8 °C gelagert werden. Das Datum, an dem das lytische Enzym hergestellt wurde, auf die Durchstechflasche schreiben.



Gießen Sie die überschüssige Probenahmelösung vor dem Abtupfen aseptisch in einem Röhrchen ab.



Proben an der Oberfläche nehmen durch horizontales, vertikales und diagonales Wischen um eine vollständige Abdeckung des Testbereichs (2,5 × 2,5 cm bis 30 ×30 cm) zu erreichen. Den Right Now Probenehmer auf die andere Seite drehen und einen Abstrich von derselben Oberfläche nehmen.



Eine Flasche Lysepufferreagenz (lyophilisiertes lytisches Enzym) mit 28 ml Lysereagenz-Resuspensionspuffer rekonstituieren. Zum Vermischen vorsichtig schwenken. Den Lysepuffer vor der Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Vorbereitung der Ausrüstung

4. Vorbereitung des Neogen® Speed Loader Tray für Molekulare Detektion

4.1 Ein Tuch oder Einwegtuch mit 1–5%iger (v:v in Wasser) Chlorbleiche befeuchten und das Neogen Speed Loader Tray für Molekulare Detektion abwischen.

4.2 Neogen Speed Loader Tray für Molekulare Detektion mit Wasser abspülen.

4.3 Neogen Speed Loader Tray für Molekulare Detektion mit einem Einwegtuch trocken wischen.

4.4 Vor Gebrauch sicherstellen, dass das Neogen Speed Loader Tray für Molekulare Detektion trocken ist.

Für diesen Vorgang werden zwei Neogen-Einsätze für den Molekulardetektions-Heiz-/Kühlblock benötigt. Beide Einsätze sind das gleiche Produkt (700000145), werden jedoch für unterschiedliche Funktionen verwendet.

Der Übersichtlichkeit halber wird der für den Erhitzungsschritt verwendete Einsatz als „Heizblockeinsatz für die Molekülare Detektion“ bezeichnet, während der für den Kühlschritt verwendete Einsatz als „Kühlblockeinsatz für die Molekülare Detektion“ bezeichnet wird. Diese Bezeichnungen dienen lediglich der Unterscheidung ihrer Funktionen und weisen nicht auf separate Produkte hin.

5. Vorbereitung des Neogen® Kühlblockeinsatzes für Molekulare Detektion

5.1 Neogen-Kühlblockeinsatz für Molekulare Detektion direkt auf der Laborwerkbank platzieren. Block bei Umgebungstemperatur im Labor verwenden.

6. Vorbereitung des Neogen® Heizblockeinsatzes für Molekulare Detektion

6.1 Neogen Heizblockeinsatz für Molekulare Detektion in einem Doppel-Heizblock platzieren. Den Heizblock einschalten und die Temperatur so einstellen, dass der Neogen Heizblockeinsatz für Molekulare Detektion eine Temperatur von 100 ± 1 °C erreichen und halten kann.

HINWEIS: Je nach Heizgerät ca. 30 Minuten warten, bis der Neogen-Heizblockeinsatz für Molekulare Detektion die vorgesehene Temperatur erreicht hat. Mit einem geeigneten, kalibrierten Thermometer (z. B. ein Einstechthermometer oder Digitalthermometer mit Thermoelement, kein Tauchthermometer) an der vorgesehenen Position sicherstellen, dass der Neogen-Heizblockeinsatz für Molekulare Detektion eine Temperatur von 100 ± 1 °C erreicht hat.

7. Vorbereitung des molekularen Detektionsgeräts von Neogen®

7.1 Die Neogen® Software für Molekulare Detektion starten und anmelden. Wenden Sie sich an einen Verkaufsvertreter von Neogen Food Safety, um sicherzustellen, dass Sie über die aktuelle Version der Software verfügen.

7.2 Das Molekulare Detektionsgerät von Neogen einschalten.

7.3 Einen neuen Durchgang erstellen oder einen Durchgang bearbeiten, indem für jede Probe eine Vertiefung ausgewählt wird. Einzelheiten siehe Benutzerhandbuch für das Molekulare Detektionssystem von Neogen.

7.4 Für den *Listeria* Right Now (LRN) Assay das LRN-Symbol in der Neogen Molekulare Detektion Software auswählen und jeder Vertiefung zuweisen.

7.5 Das LRN NC-Symbol und das LRN RC-Symbol den entsprechenden Vertiefungen innerhalb des Durchgangs für die Negativkontrolle bzw. die Reagenzkontrolle zuweisen.

7.6. Für jeden Durchgang wird ein LRN NC und für das Kit ein LRN RC eingerichtet.

HINWEIS: Das Molekulare Detektionsgerät von Neogen muss eine Temperatur von 60 °C erreichen und halten, bevor das Neogen Schnelladefach für Molekulare Detektion mit Reaktionsröhrchen eingesetzt wird. Dieser Heizschritt dauert ca. 20 Minuten und wird durch eine ORANGEFARBENE Anzeige in der Statusleiste des Geräts angezeigt. Wenn das Gerät bereit ist, einen Durchgang zu starten, wird die Statusleiste GRÜN.

8. Lyse für *Listeria* Right Now™ Assay

8.1 1 ml der in Schritt 3.1 hergestellten Right Now™ Lysepuffer-Reagenzlösung in den Right Now Probenehmer überführen, der zur Entnahme der Probe verwendet wird (Abschnitt 2). Ein Berühren der Seiten des Right Now Probenahmeröhrchens ist zu vermeiden. Die Spitzen bei jeder Probe wechseln, um eine Kontamination des Lysepuffers zu vermeiden.

HINWEIS: Den unbenutzten Lysepuffer nach Gebrauch (innerhalb von 1 Stunde) wieder in den Kühlschrank stellen.

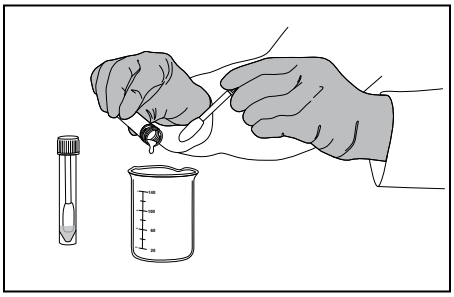
8.2 Die Schutzkappe des Röhrchens schließen. Das Right Now Prebenehmeröhrchen 5–10 Sekunden lang gründlich mit einem Vortex-Mischer mischen, um die Probe aus dem Right Now Probenehmer zu lösen.

8.3 Die Anzahl der einzelnen Cluster-Röhrchen in ein leeres Rack legen. Für jede zu testende Probe wird ein leeres Cluster-Röhrchen benötigt. Fügen Sie immer ein zusätzliches leeres Clusterröhrchen für die Negativkontrolle (NC) bei.

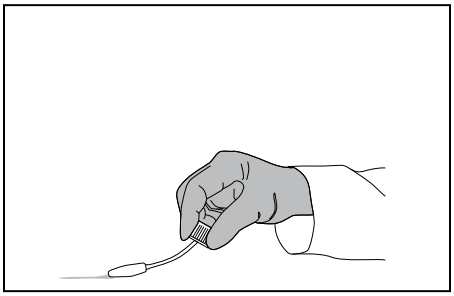
8.4 Den Right Now Probenehmer aus dem in 8.1 vorbereiteten Röhrchen nehmen und auf seine Schutzkappe auf den Labortisch stellen. Das Berühren des Probenehmer vermeiden, um eine Kontamination zu vermeiden.

8.5 500 µl aus jedem Right Now Probenehmerröhrchen mit einer verlängerten Pipettenspitze in ein entsprechendes leeres Cluster-Röhrchen übertragen. Den Probenehmer wieder in das Röhrchen einsetzen und die Schutzkappe befestigen.

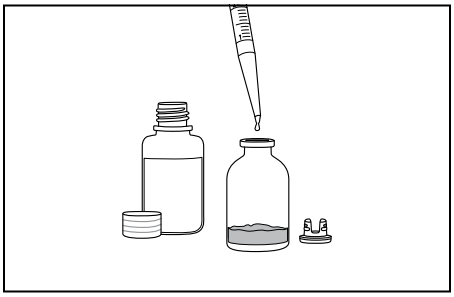
HINWEIS: Es werden velängerte Pipettenspitzen (die länger als Standard-Pipettenspitzen sind) empfohlen. Falls der Pipettenschaft das Right Now Probenehmerröhrchen berührt, die Pipettenspitze auswerfen und dann mit einem mit 1–5 %iger Bleiche besprühten Handtuch den Schaft der Pipette gründlich abwischen, um eine Kreuzkontamination zwischen den Proben zu vermeiden.



Gießen Sie die überschüssige Probenahmelösung vor dem Abtupfen aseptisch in einem Röhrchen ab.



Proben an der Oberfläche nehmen durch horizontales, vertikales und diagonales Wischen um eine vollständige Abdeckung des Testbereichs (2,5 × 2,5 cm bis 30 ×30 cm) zu erreichen. Den Right Now Probenehmer auf die andere Seite drehen und einen Abstrich von derselben Oberfläche nehmen.



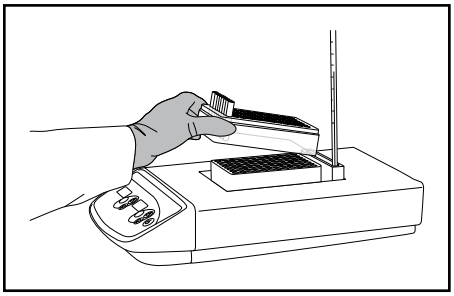
Eine Flasche Lysepufferreagenz (lyophilisiertes lytisches Enzym) mit 28 ml Lysereagenz-Resuspensionspuffer rekonstituieren. Zum Vermischen vorsichtig schwenken. Den Lysepuffer vor der Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

8.6 Wenn alle Proben überführt sind, wird die NC vorbereitet, indem 500 µl Lysepuffer (vorbereitet in 3.1) in ein leeres Cluster-Röhrchen überführt werden. Kein Wasser als NC verwenden.

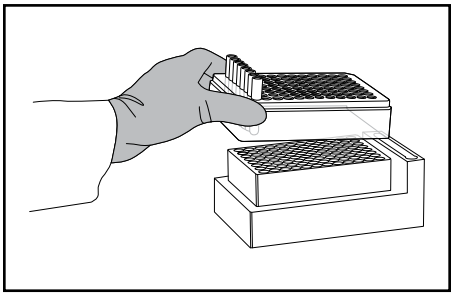
8.7 Sicherstellen, dass die Temperatur des Neogen-Heizblockeinsatzes für Molekulare Detektion bei 100 ± 1 °C liegt.

8.8 **Heizschritt:** Das nicht abgedeckte Rack mit den Cluster-Röhrchen in den Neogen Heizblockeinsatz für Molekulare Detektion legen und 10 ± 1 Minuten lang erhitzen. Während des Erhitzens kann sich das Lysat trüben.

8.9 **Kühlschritt:** Das nicht abgedeckte Rack mit den Cluster-Röhrchen aus dem Heizblock entnehmen und mindestens 5 Minuten und maximal 60 Minuten lang im Neogen-Kühlblockeinsatz für molekulare Detektion abkühlen lassen. Der Neogen-Kühlblockeinsatz für Molekulare Detektion, der bei Umgebungstemperatur verwendet wird, sollte direkt auf dem Labortisch platziert werden. Im abgekühlten Zustand sollte das Lysat klar sein.



Das nicht abgedeckte Rack mit Cluster-Röhrchen im Neogen-Heizblockeinsatz für Molekulare Detektion platzieren und 10 ± 1 Minuten lang aufheizen. Während des Erhitzens kann sich das Lysat trüben.



Das nicht abgedeckte Rack mit den Cluster-Röhrchen aus dem Heizblock entnehmen und mindestens 5 Minuten und maximal 60 Minuten lang im Neogen-Kühlblockeinsatz für molekulare Detektion abkühlen lassen.

9. Amplifikation

9.1 Für jede Probe und die NC ist ein Neogen Molekularer Detektionstest – *Listeria* Right Now Reagenzröhrchen erforderlich.

9.1.1 Reagenzröhrchenstreifen können auf die gewünschte Anzahl an Röhrchen zugeschnitten werden. Erforderliche Anzahl einzelner Reagenzröhrchen oder -streifen zu 8 Röhrchen auswählen.

9.1.2 Die Reagenz-Pellets unten in den Röhrchen nicht in Bewegung bringen.

9.2 Ein Röhrchen mit *Listeria* Right Now Reagenzkontrolle (RC) entfernen und in das Rack legen.

9.3 Für das LRN NC-Lysat ein *Listeria* Right Now-Reagenzröhrchen auswählen und dieses in denselben Halter stellen. Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, jeweils einen Streifen des Reagenzröhrchens öffnen und für jeden Übertragungsschritt eine neue Pipettenspitze verwenden.

9.4 Die Lysate wie unten beschrieben in ein *Listeria* Right Now Reagenzröhrchen übertragen.

9.5 Den Neogen® Capper/Decapper für Molekulare Detektion zum Öffnen der Reagenzröhrchen verwenden. Immer nur einen Reagenzröhrchenstreifen öffnen. Kappe entsorgen.

9.5.1 50 µl Probenlysat aus der oberen Hälfte der Flüssigkeit im Cluster-Röhrchen (Ausfällungen vermeiden) in das Neogen *Listeria* Right Now Reagenzröhrchen übertragen. Abgewinkelt einfüllen, um die Pellets nicht in Bewegung zu versetzen. Fünfmal sanft auf- und abpipettieren, um zu mischen.

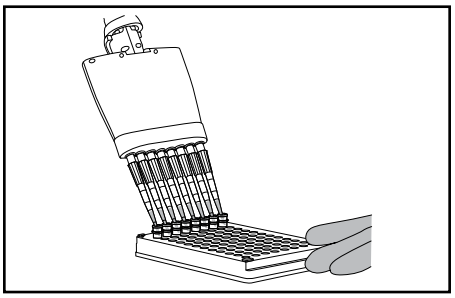
9.5.2 Schritt 9.5.1 wiederholen, bis das gesamte einzelne Probenlysat in ein Reagenzröhrchen im Streifen gegeben wurde.

9.5.3 Die Reagenzröhrchen mit den bereitgestellten zusätzlichen Schutzkappen verschließen und durch Hin- und Herbewegen der runden Seite des Neogen Capper/Decapper Druck auf die Schutzkappe ausüben, damit sie dicht verschließt.

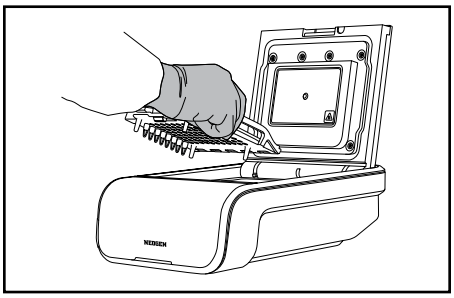
9.5.4 Schritte 9.5.1 bis 9.5.3 nach Bedarf für die Anzahl der zu testenden Proben wiederholen.

9.5.5 Wenn alle Probenlysate übertragen wurden, 50 µl des NC-Lysats in ein *Listeria* Right Now Reagenzröhrchen übertragen. Fünfmal sanft auf- und abpipettieren, um zu mischen.

9.5.6 Abschließend 50 µl NC-Lysat in eine Right Now™ Sofort-Reagenzkontrolle (RC) übertragen. Fünf Mal sanft Auf- und Abpipettieren, um zu mischen.



50 µl Probenlysat aus der oberen Hälfte des Cluster-Röhrchens in das LRN Reagenzröhrchen übertragen. Abgewinkelt einfüllen, um die Pellets nicht in Bewegung zu versetzen. Fünf Mal sanft Auf- und Abpipettieren, um zu mischen.



Verschlossene Röhrchen in ein sauberes und dekontaminiertes Neogen Speed Loader Tray für Molekulare Detektion einsetzen. Schließen und in Neogen MDS einsetzen. Klappe schließen, um Test zu starten

9.6 Verschlossene Röhrchen in ein sauberes und dekontaminiertes Neogen Speed Loader Tray für Molekulare Detektion einsetzen. Das Neogen Speed Loader Tray für Molekulare Detektion schließen und verriegeln.

9.7 Den konfigurierten Durchlauf in der Neogen Software für das Molekulare Detektionssystem prüfen und bestätigen.

9.8 In der Software auf die Schaltfläche „Start” klicken und das zu verwendende Gerät auswählen. Die Klappe des ausgewählten Geräts öffnet sich automatisch.

9.9 Das Neogen Speed Loader Tray für Molekulare Detektion in das Molekulare Detektionsgerät von Neogen einsetzen und Klappe schließen, um den Nachweis zu starten. Die Ergebnisse liegen innerhalb von 45 Minuten vor, wobei positive Ergebnisse auch früher erkannt werden können.

9.10 Nach Abschluss des Nachweises das Neogen Speed Loader Tray für Molekulare Detektion aus dem molekularen Detektionsgerät von Neogen entnehmen und die Röhrchen durch einstündiges Einweichen in einer 1–5%igen (v:v in Wasser) chlorhaltigen Bleichmittellösung abseits des Nachweis-Vorbereitungsbereichs entsorgen.

HINWEIS: Um das Risiko falsch-positiver Ergebnisse aufgrund von Kreuzkontamination zu minimieren, niemals Reagenzröhrchen öffnen, die amplifizierte DNA enthalten. Versiegelte Reagenzröhrchen stets durch einstündiges Einweichen in einer 1–5%igen (v:v in Wasser) chlorhaltigen Bleichmittellösung abseits des Nachweis-Vorbereitungsbereichs entsorgen.

Ergebnisse und Interpretation

Ein Algorithmus interpretiert die Lichtausgabekurve des Nachweises einer Nukleinsäureamplifikation. Die Ergebnisse werden von der Software automatisch analysiert und basierend auf dem Ergebnis farblich gekennzeichnet. Ein positives oder negatives Ergebnis wird durch die Analyse einer Reihe eindeutiger Kurvenparameter bestimmt. Positive Ergebnisse werden in Echtzeit gemeldet, während negative Ergebnisse nach Abschluss des Durchgangs angezeigt werden.

HINWEIS: Selbst eine negative Probe gibt keinen Wert von Null aus, da das System und die Amplifikationsreagenzien der Neogen Molekulare Detektionstest – *Listeria* Right Now einen RLU-„Hintergrundwert” (relative Lichteinheiten) aufweisen.

Tabelle 2: Ergebnissymbole für Proben und Interpretation, wie sie von der Neogen-Software für das Molekulare Detektionssystem bereitgestellt werden.

Vertiefungstyp	Ergebnissymbol für Vertiefung	Ergebnis	Interpretation
Probe		Positiv	Die Probe ist positiv hinsichtlich *Listeria* spp.
Probe		Negativ	Die Probe ist negativ hinsichtlich *Listeria* spp.
Probe		Inhibiert	Die Probenmatrix war hemmend für den Nachweis. Der Test muss möglicherweise wiederholt werden.
Probe		Fehler	Es wurde keine Biolumineszenz festgestellt. Der Test muss möglicherweise wiederholt werden.

*Siehe den Durchgangsbericht für weitere Details zu den Ergebnissen. Wenn nötig, wenden Sie sich an Ihren örtlichen Neogen-Vertreter für Hilfe bei der Fehlerbehebung.

Bestätigung

Mit dieser Methode erzielte vermutlich positive Ergebnisse können nicht bestätigt werden. Der Endnutzer kann das entsprechende Reinigungsprotokoll befolgen und einen erneuten Test durchführen. Oder falls eine isolierte Kolonie benötigt wird, nehmen Sie einen erneuten Abstrich des Testbereichs vor und führen Sie die Untersuchung gemäß den Kulturverfahren in FDA BAM Kap. 10[7] oder ISO 11290-1[8] durch.

Literatur

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. NF EN ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
3. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
4. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
5. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.
7. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 10: Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods (April 22)
8. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 1: Detection method, https://www.iso.org/standard/60313.html

Erklärung der Symbole

www.neogen.com/foodsafety/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
Auchincruive House
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Instrucciones del producto

Neogen®, ensayo de detección molecular: *Listeria* Right Now™

Descripción del producto y uso previsto

El kit del ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now (MDALRN96) de Neogen se emplea con el sistema de detección molecular de Neogen® para una detección rápida y específica de *Listeria* spp. viables y no viables en muestras de superficies ambientales visiblemente limpias después de una limpieza o desinfección y antes de la producción, sin necesidad de realizar ningún tipo de enriquecimiento de la muestra. Se usa con ayuda del dispositivo para toma de muestras, que viene incluido en el kit Right Now™ de Neogen. Este dispositivo esta inmerso en una solución de muestreo, a fin de monitorear la presencia de *Listeria* en el ambiente de plantas de fabricación de alimentos y procesamiento de bebidas. Este método proporciona solo resultados presuntivos y no está intencionado con fines confirmatorios.

Este ensayo detecta ARN ribosomal (ARNr) en superficies ambientales, como indicador de la presencia del microorganismo objetivo. Puesto que el ARNr puede seguir presente incluso cuando el microorganismo ha dejado de ser viable, este método puede arrojar resultados positivos en situaciones en las que no es posible recuperar el microorganismo mediante los métodos tradicionales de cultivo, que solo detectan células vivas. El ensayo utiliza el Dispositivo para toma de muestras, que viene incluido en el kit Right Now™ de Neogen. Este dispositivo esta embebido en una solución de muestreo, a fin de monitorear la presencia de *Listeria* en el ambiente de plantas de fabricación de alimentos y bebidas.

En el kit de detección, se incluyen tubos de color azul, perlas liofilizadas codificadas por color para detectar la presencia de especies de *Listeria*.

Tras la recolección de muestras con el dispositivo para toma de muestras Right Now, el contenido es lisado para liberar los ácidos nucleicos. Luego, el ARN ribosómico se transcribe de forma inversa en ADN complementario (ADNc). El ensayo emplea amplificación isotérmica mediada por bucle (Loop-Mediated Isothermal Amplification, LAMP) para una amplificación rápida, altamente específica y sensible de los ácidos nucleicos, con detección bioluminiscente del producto amplificado.

El ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen está diseñado para que lo utilicen profesionales capacitados en técnicas de laboratorio en un entorno de laboratorio. Neogen no ha documentado el uso de este producto en otras industrias que no sean de alimentos o bebidas. Por ejemplo, Neogen no ha documentado este producto para analizar muestras farmacéuticas, cosméticas, clínicas ni veterinarias. El Ensayo de Detección Molecular ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen no se evaluó en todos los entornos posibles de procesamiento de alimentos ni con todas las cepas posibles de *Listeria*. Neogen recomienda la evaluación del método en el entorno del usuario usando un número suficiente de muestras para desafíos particulares relacionados con el entorno. De este modo, se podrá garantizar que el método cumpla con los criterios del usuario.

Al aplicar el método o durante la validación de éste, use el control de matriz (RNMC96) asociado al kit Right Now™ de Neogen® para demostrar la fiabilidad del ensayo en el entorno del usuario.

El instrumento de detección molecular de Neogen® está diseñado para su uso con muestras sujetas a algún tratamiento térmico durante el paso de lisis del ensayo. Se recuerda que este paso tiene por objetivo descomponer por lisis las células a fin de liberar los ácidos nucleicos de los microorganismos presentes en la muestra. Las muestras que no se hayan tratado con calor de forma adecuada durante el paso de lisis del ensayo podrían considerarse un riesgo biológico potencial y NO deberían introducirse en el instrumento de detección molecular de Neogen.

Neogen Food Safety cuenta con certificación ISO 9001 de la Organización Internacional de Normalización (International Organization for Standardization, ISO) para diseño y fabricación.

En el kit de prueba del ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen, se incluyen suficientes reactivos para realizar 96 pruebas, como se describe en la tabla 1.

Tabla 1. Componentes del kit

Artículo	Identificación	Cantidad	Contenido	Comentarios
Dispositivo para toma de muestras Right Now™	Tubos con tapa azul y dispositivos para toma de muestras de poliuretano	96 dispositivos para toma de muestras	Dispositivo para toma de muestras inmerso en 1.5 mL de solución de muestreo	Listo para usar
Solución amortiguadora para resuspensión de reactivos de lisis Right Now™	Botellas de plástico transparentes	2 frascos (cada uno puede reconstituir dos frascos de solución amortiguadora para reactivos de lisis)	Solución amortiguadora para resuspensión	Listo para usar
Solución amortiguadora para reactivos de lisis Right Now™	Frascos de vidrio transparente	4 frascos (reconstituidos, cada uno puede llenar 28 tubos de solución para lisis)	Reactivo para lisis	Liofilizado
Tubos de lisis (LS)	Tubos cluster transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos cada una)	Vacíos	En estante y listo para usar
Tubos para reactivos del kit *Listeria* Right Now™	Tubos transparentes con pellet azul	96 (3 sobres que contienen 4 tiras de 8 tubos)	Mezcla para amplificación y detección específica liofilizada	Listo para usar
Tapas adicionales	Tapas transparentes	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listo para usar
Control de reactivos (RC) Right Now™	Tubos transparentes con tapa abatible	16 (2 sobres de 8 tubos individuales)	Mezcla liofilizada de ácido nucleico para control, amplificación y detección	Listo para usar

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y seguir toda la información de seguridad que aparece en las instrucciones para el sistema de detección molecular de Neogen y en el ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen. Guarde estas instrucciones de seguridad para consultas futuras.

ADVERTENCIA:	Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría provocar la muerte o lesiones graves o daños a la propiedad.
PRECAUCIÓN:	Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría provocar lesiones leves o moderadas o daños a la propiedad.

ADVERTENCIA

No utilice el ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now™ de Neogen para fines de diagnóstico clínico de listeriosis en humanos o animales.

El usuario debe capacitar a su personal en técnicas de prueba adecuadas actuales, entre ellas: Buenas Prácticas de Laboratorio(1), norma ISO 7218:2024[2] o la guía de Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos (BMBL) de los CDC[3].

El ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now no se diseñó para tomar muestras de superficies sucias o contaminadas ni para el análisis de matrices alimentarias.

Para reducir los riesgos asociados con un resultado falso negativo que produce el uso de superficies contaminadas, siga estas recomendaciones:

- Siga el protocolo y realice las pruebas exactamente como se indica en las instrucciones del producto.
- Para transferir muestras y reactivos durante la aplicación del método, respete las Buenas Prácticas de Laboratorio.
- Almacene el ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen según se indica en el paquete y en las instrucciones del producto.
- Siempre use el ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen antes de la fecha de vencimiento.
- Siempre use los dispositivos para toma de muestras que se incluyen en el kit. No use ningún otro dispositivo para toma de muestras.
- El dispositivo para toma de muestras Right Now es de un solo uso.

- Una vez que haya comenzado la rehidratación de los pellet de reactivo, no pause el ensayo por ningún motivo.
- Se recomienda insistentemente informar al personal femenino de laboratorio del riesgo que supone para el feto en desarrollo la infección de la madre por exposición a *Listeria monocytogenes*.

Para reducir los riesgos asociados con la exposición a químicos y riesgos biológicos:

- Realice pruebas de patógenos en un laboratorio debidamente equipado bajo el control de personal capacitado.
- A fin de eliminar cualquier resto de solución de hisopado, los usuarios deben limpiar la superficie en contacto con los alimentos después de la toma de muestras.

Para reducir los riesgos asociados con la contaminación cruzada mientras prepara el ensayo:

- Siempre use guantes (para proteger al usuario y evitar la introducción de nucleasas).

Para reducir los riesgos asociados con la contaminación ambiental:

- Siga las normativas locales, regionales y nacionales en cuanto a los requisitos de eliminación.

PRECAUCIÓN

Para reducir los riesgos asociados con la exposición a líquidos calientes:

- No supere el ajuste de temperatura recomendado en el calentador.
- No supere el tiempo de calentamiento recomendado.
- Use un termómetro calibrado adecuado para verificar la temperatura del bloque de calentamiento para detección molecular de Neogen® (p. ej., un termómetro de inmersión parcial o termómetro termopar digital, no un termómetro de inmersión total). El termómetro se debe colocar en la ubicación designada en el bloque de calentamiento para la detección molecular de Neogen.

Para reducir los riesgos asociados con la contaminación cruzada mientras prepara el ensayo:

- Cámbiese los guantes antes de la hidratación de los pellet de reactivos.
- Se recomienda el uso de puntas de pipeta de grado biológico molecular con barrera de aerosol (filtrada) largas y estériles.
- Use una punta de pipeta nueva para cada transferencia de muestra.
- Siga Buenas Prácticas de Laboratorio para transferir la muestra al tubo de lisis. A fin de evitar el riego de contaminación cruzada entre muestras, el usuario puede optar por limpiar el eje (vástago) de la pipeta con un paño humedecido de solución de cloro al 10 % y, después, secarlo con un toallita de papel limpia, o bien puede usar directamente puntas de pipeta de longitud extendida.
- Use una estación de trabajo de biología molecular equipada con una lámpara germicida cuando esté disponible.
- Descontamine periódicamente mesas y equipo de laboratorio (pipetas, herramientas de tapar/destapar, gradillas de tubos de reactivos, etc.) con una solución a base de cloro de uso doméstico del 1 y el 5 % (v:v en agua) o una solución de remoción de ácidos nucleicos.

Para reducir los riesgos asociados con un resultado falso positivo:

- Nunca abra a los tubos de reactivos después de la amplificación.
- Siempre deseche los tubos contaminados sumergiéndolos en una solución a base de cloro de uso doméstico al 1-5 % (que contenga hipoclorito de sodio) durante 1 hora, alejado del área de preparación del ensayo.
- Nunca ponga los tubos de reactivos en un autoclave después de la amplificación.

Para obtener información adicional y conocer los reglamentos locales, estales o nacionales para el desecho, consulte la ficha de datos de seguridad.

Si tiene preguntas sobre aplicaciones o procedimientos específicos, visite nuestro sitio web en neogen.com o comuníquese con su representante o distribuidor local de Neogen.

Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de conocer al detalle las instrucciones y la información del producto. Visite nuestro sitio web en neogen.com o póngase en contacto con su representante o distribuidor local de Neogen para obtener más información.

Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que hay factores externos, por ejemplo, los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de muestras, la manipulación, la técnica de laboratorio y la muestra en sí, que pueden ejercer cierta influencia en los resultados.

A la hora de seleccionar cualquier metodología de prueba o producto, es responsabilidad del usuario evaluar una cantidad suficiente de muestras con las matrices y las pruebas de exposición a microbios adecuadas para asegurarse de que la metodología de prueba elegido cumple sus criterios.

Además, es responsabilidad del usuario determinar que los métodos y resultados de las pruebas cumplen con los requisitos de sus clientes y proveedores.

Como sucede con cualquier metodología de prueba, los resultados obtenidos del uso de cualquier producto de seguridad alimentaria de Neogen no constituyen una garantía de la calidad de las muestras ni de los procesos probados.

Para ayudar a los clientes a evaluar la idoneidad para el propósito del método durante la implementación, Neogen ha desarrollado el Kit de Control Matriz Right Now de Detección Molecular de Neogen® (también llamado control de amplificación en ISO 24914:2026[4]). Use el Control Matriz Right Now (RNMC96) para evaluar la interferencia de la matriz con los resultados del ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen durante la validación y verificación. Siga la norma ISO 16140-3:2021[5] y/o el programa de aseguramiento de calidad de su organización para determinar el número representativo de muestras necesarias al verificar el rendimiento del método y definir el alcance de su aplicación en su laboratorio. El uso rutinario del Control Matriz Right Now no es necesario una vez que el método ha sido verificado y se ha establecido el alcance de aplicación en laboratorio. Siga el programa de aseguramiento de la calidad de su organización para determinar caso por caso la necesidad de uso del Control Matriz Right Now, así como su frecuencia de uso durante las pruebas rutinarias.

Limitación de garantías/Recurso limitado

A EXCEPCIÓN DE LO ESTABLECIDO EXPRESAMENTE EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA DE EMPAQUE DE PRODUCTO INDIVIDUAL, NEOGEN RENUNCIA A TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESAS E IMPLÍCITAS, QUE INCLUYE, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIALIZACIÓN O APTITUD PARA UN USO EN PARTICULAR. Si algún producto de Neogen Food Safety es defectuoso, Neogen o su distribuidor autorizado, a su elección, reemplazará o reembolsará el precio de compra del producto. Estos son sus remedios exclusivos. Debe notificar de inmediato a Neogen dentro de los sesenta días posteriores al descubrimiento de cualquier defecto sospechoso en un producto y devolverlo a Neogen. Póngase en contacto con su representante de Neogen Food Safety o distribuidor autorizado de Neogen si tuviera cualquier otra pregunta.

Limitación de responsabilidad de Neogen

NEOGEN NO ASUME RESPONSABILIDAD ALGUNA POR PÉRDIDAS O DAÑOS DE NINGÚN TIPO, YA SEA DAÑOS DIRECTOS, INDIRECTOS, ESPECIALES, INCIDENTALES O CONSECUENTES, INCLUIDO, ENTRE OTROS, LA PÉRDIDA DE UTILIDADES. En ningún caso la responsabilidad de Neogen bajo cualquier teoría legal excederá el precio de compra del producto presuntamente defectuoso.

Para consultar los términos y condiciones completos de Neogen, visite: neogen.com/en/terms-and-conditions/

Almacenamiento y desecho

Almacene el ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen® en un lugar con una temperatura entre 2 y 8 °C. No se debe congelar. Mantenga el kit alejado de la luz durante el almacenamiento.

Después de abrir el kit, revise la bolsa de aluminio, el plástico y los frascos de vidrio en busca de posibles daños. Si el contenido del kit está dañado de algún modo, no lo use.

Después de abrirlos, los tubos de reactivos no utilizados siempre deben almacenarse en la bolsa resellable con el desecante en su interior, a fin de garantizar la estabilidad de los reactivos liofilizados. Almacene las bolsas reselladas entre 2 y 8 °C durante no más de 60 días.

Después de su uso, vuelva a tapar la solución amortiguadora para resuspensión de reactivos de lisis Right Now™. Asegúrese de que el frasco quede bien tapado.

La solución amortiguadora reconstituida para reactivos de lisis Right Now™ se puede almacenar en un lugar con una temperatura de entre 2 y 8 °C durante 21 días como máximo.

Si es necesario, la tapa de la solución amortiguadora para reactivos de lisis se puede asegurar aun más con cinta Parafilm®.

No use el ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen® si se encuentra vencido. La fecha de vencimiento y el número de lote se indican en la etiqueta exterior de la caja.

Una vez finalizadas las pruebas, siga los reglamentos locales, regionales y nacionales para la eliminación de desechos contaminados. Para obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad de los materiales.

Instrucciones específicas para métodos validados

Certificado núm. 042604 de AOAC® *Performance Tested Methods℠* (PTM)

Este método cuenta con una certificación de AOAC® *Performance Tested Methods℠* (PTM). En un estudio PTM℠ del AOAC Research Institute, se comprobó que el ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now™ es un método eficaz para la detección de *Listeria* spp. viables y no viables en superficies de acero inoxidable (de hasta 4 in x4 in).

Instrucciones de uso

Siga todas las instrucciones con atención. De lo contrario, puede dar lugar a resultados imprecisos.

Descontamine periódicamente mesas y equipo de laboratorio (pipetas, herramientas de tapar/destapar, gradillas de tubos de reactivos, etc.) con una solución a base de cloro de uso doméstico del 1 y el 5 % (v:v en agua) o una solución de remoción de ácidos nucleicos.

El usuario debería completar la capacitación de calificación de operador (OQ) del sistema de detección molecular de Neogen®, según se describe en el documento “Protocolos e instrucciones de calificación de instalación (IQ)/calificación operativa (OQ) para el sistema de detección molecular de Neogen”[6].

1. Preparación del dispositivo para toma de muestras Right Now™

1.1 Etiquete el tubo del dispositivo para toma de muestras Right Now con la identificación (Id.) correspondiente de la muestra.

1.2 Mueva el tubo del dispositivo para toma de muestras Right Now dos veces, a fin de que la solución de muestreo decante al fondo del tubo.

1.3 Abra el tubo del dispositivo para toma de muestras Right Now; luego, apriételo para eliminar el excedente de solución de muestreo.

1.4 De forma aséptica, vierta la solución de muestreo restante fuera del tubo.

1.5 Vuelva a colocar el dispositivo para toma de muestras Right Now en el tubo vacío.

2. Recolección de muestras

2.1. Tome muestras de la superficie. Para ello, pase el dispositivo en dirección horizontal, vertical y diagonal para cubrir por completo la zona de prueba (de 1 × 1 in por 12 × 12 in; 2.5 × 2.5 cm por 30 × 30 cm). Con el extremo opuesto del dispositivo para toma de muestras Right Now, tome otra muestra de la misma superficie muestreada.

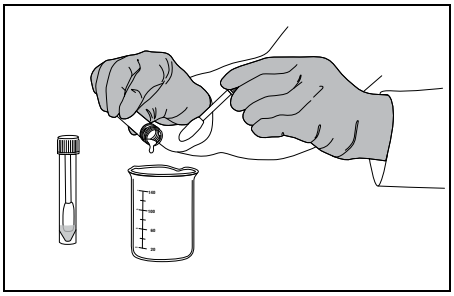
2.2. Vuelva a colocar el dispositivo para toma de muestras Right Now en el tubo vacío.

2.3. Si la prueba no se realiza de inmediato, guarde los dispositivos para toma de muestras en un lugar con una temperatura de entre 2 y 8 °C. El dispositivo para toma de muestras Right Now se puede conservar hasta por 24 horas en un lugar con una temperatura de entre 2 y 8 °C antes de la prueba. La conservación de muestras está fuera del alcance de la validación de la AOAC.

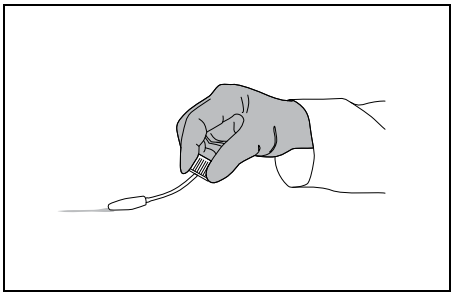
3. Preparación de la solución amortiguadora para reactivos de lisis Right Now™ (enzima lítica)

3.1. Reconstituya un frasco de la solución amortiguadora para reactivos de lisis Right Now™ que contiene la enzima lítica liofilizada con 28 mL de solución amortiguadora para resuspensión de reactivos de lisis Right Now™. Mezcle con suavidad para mezclar la solución. Espere hasta que la solución amortiguadora para lisis se atempere antes de usarla.

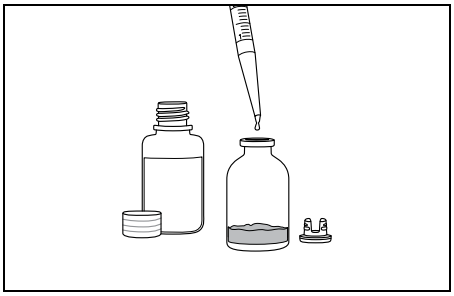
NOTA: La solución amortiguadora rehidratada para lisis se puede almacenar a una temperatura de entre 2 y 8 °C durante 21 días. Escriba la fecha en la que se preparó la enzima lítica en una etiqueta en el vial.



De manera aséptica, vierta el exceso de solución de muestreo en el tubo antes realizar el hisopado.



Tome muestras de la superficie. Para ello, pase un hisopo en dirección horizontal, vertical y diagonal para cubrir por completo la zona de prueba (de 2.54 x 2.54 cm a 30.50 x 30.50 cm). Con el extremo opuesto del dispositivo para toma de muestras Right Now, tome otra muestra de la misma superficie muestreada.



Reconstituya un frasco de solución amortiguadora para reactivos de lisis (enzima lítica liofilizada) con 28 mL de solución amortiguadora reconstituida para reactivos de lisis. Gire con suavidad para mezclar la solución. Espere hasta que la solución amortiguadora para lisis se atempere antes de usarla.

Preparación del equipo

4. Preparación de la bandeja de carga rápida para el kit de detección molecular de Neogen®

4.1 Humedezca un paño o una toalla descartable con una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) y enjuague la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen.

4.2 Enjuague con agua la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen.

4.3 Use una toalla descartable para secar la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen.

4.4 Asegúrese de que la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen esté seca antes de usarla.

Para este procedimiento se requieren dos Bloques Insertables de Calentamiento/Enfriamiento del sistema de detección molecular Neogen. Ambos insertos son el mismo producto (700000145) pero se utilizan para funciones diferentes.

Para mayor claridad en procedimiento, el inserto utilizado para el paso de calentamiento se denominará Bloque Insertable de Calentamiento de Detección Molecular, y el inserto utilizado para el paso de enfriamiento se denominará Bloque Insertable de Enfriamiento de Detección Molecular. Estas designaciones se utilizan únicamente para distinguir sus funciones y no indican productos separados.

5. Preparación del bloque de enfriamiento para el kit de detección molecular de Neogen®

5.1 Coloque el bloque de enfriamiento para la detección molecular de Neogen directamente sobre una mesa de laboratorio. Use el bloque a temperatura ambiente del laboratorio.

6. Preparación del bloque de calentamiento para el kit de detección molecular de Neogen®

6.1 Coloque el bloque de calentamiento para la detección molecular de Neogen en una unidad doble de bloque de calentamiento seco. Encienda la unidad del bloque de calentamiento seco y ajuste la temperatura para permitir que el bloque de calentamiento para la detección molecular de Neogen alcance y mantenga una temperatura de 100 ± 1 °C.

NOTA: Según la unidad de calentamiento, espere unos 30 minutos para que el bloque de calentamiento para detección molecular de Neogen alcance la temperatura. Con un termómetro calibrado adecuado (p. ej., un termómetro de inmersión parcial o termopar digital, no un termómetro de inmersión total) colocado en la ubicación designada, verifique que el bloque de calentamiento para detección molecular de Neogen esté a 100 ± 1 °C.

7. Preparación del instrumento de detección molecular de Neogen®

7.1 Inicie el software de detección molecular de Neogen® e inicie sesión. Comuníquese con su representante de Neogen Food Safety a fin de garantizar que tenga la versión más actualizada del software.

7.2 Encienda el instrumento de detección molecular de Neogen.

7.3 Cree un nuevo ensayo o edite un ensayo existente. Para ello, seleccione un pocillo para cada muestra. Consulte el manual del usuario del sistema de detección molecular de Neogen para obtener más detalles.

7.4 En el caso del ensayo de detección *Listeria* Right Now (LRN), seleccione el icono del ensayo LRN en el software de detección molecular de Neogen y, a continuación, asígnelo a cada pocillo.

7.5 Asigne el icono de control negativo (NC) y de control de reactivos (RC) del ensayo LRN a los pocillos correspondientes de cada ensayo, para fines de control negativo y de reactivos, respectivamente.

7.6. El icono de NC del ensayo LRN se configura para cada experimento, mientras que el icono de RC, para el kit.

NOTA: El instrumento de detección molecular de Neogen debe alcanzar y mantener una temperatura de 60 °C antes de insertar la bandeja de carga rápida para detección molecular de Neogen con tubos de reacción. Este paso de calentamiento dura cerca de 20 minutos y se indica con una luz NARANJA en la barra de estado del instrumento. Cuando el instrumento esté listo para iniciar una ejecución, la barra de estado será VERDE.

8. Lisis para el ensayo de detección *Listeria* Right Now™

8.1 Transfiera 1 mL de la solución amortiguadora para reactivos de lisis Right Now™, que preparó en el paso 3.1, al dispositivo para toma de muestras Right Now, que usó para recolectar la muestra (sección 2). Evite tocar los lados del tubo del dispositivo para toma de muestras Right Now. Cambie las puntas con cada muestra, a fin de prevenir cualquier riesgo de contaminación de la solución amortiguadora para lisis.

NOTA: Después de su uso, vuelva a colocar la solución amortiguadora para lisis excedente en el refrigerador (no puede pasar más de 1 hora).

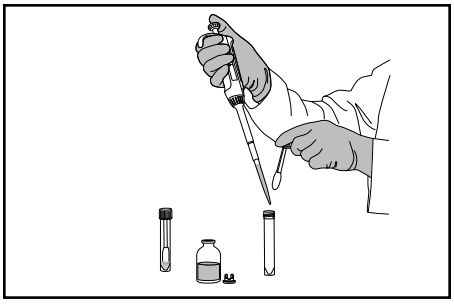
8.2 Cierre el tubo. A fin de extraer la muestra del dispositivo para toma de muestras Right Now, mezcle el contenido del tubo vigorosamente con un mezclador de vórtice entre 5 y 10 segundos.

8.3 Coloque el número de tubos individuales en una gradilla vacía. Se debe emplear un tubo vacío para cada muestra por analizar. Incluya siempre un tubo cluster vacío adicional para fines de control negativo (NC).

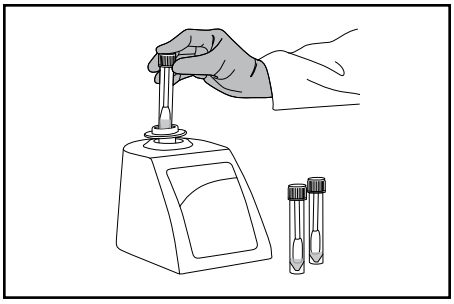
8.4 Retire el dispositivo para toma de muestras Right Now del tubo, que preparó en el paso 8.1, y colóquelo sobre la tapa correspondiente en el banco. No toque el dispositivo para toma de muestras, a fin de prevenir cualquier riesgo de contaminación.

8.5 Transfiera 500 µL de cada tubo del dispositivo para toma de muestras Right Now a un tubo de agrupamiento vacío correspondiente. Para ello, use una punta de pipeta de longitud extendida. Vuelva a colocar el dispositivo para toma de muestras en el tubo y asegure la tapa.

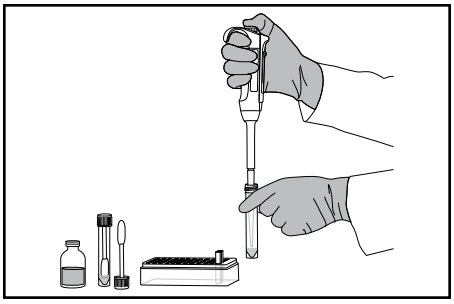
NOTA: Se recomienda el uso de puntas de pipeta de longitud extendida, ya que son más largas que las puntas de pipeta convencionales. En el caso de que el eje de la pipeta toque el tubo del dispositivo para toma de muestras Right Now, expulse la punta de la pipeta; a continuación, use un paño embebido en solución de cloro al 1 o 5 % para limpiarlo a fondo y prevenir cualquier riesgo de contaminación por contacto cruzado entre las muestras.



Transfiera 1 mL de la solución amortiguadora para reactivos de lisis Right Now™ al dispositivo para toma de muestras Right Now™ que usó para recolectar la muestra. Evite tocar los lados del tubo del dispositivo para toma de muestras.



Cierre el tubo. A fin de extraer la muestra del dispositivo para toma de muestras, mezcle el contenido del tubo vigorosamente con un mezclador de vórtice entre 5 y 10 segundos.



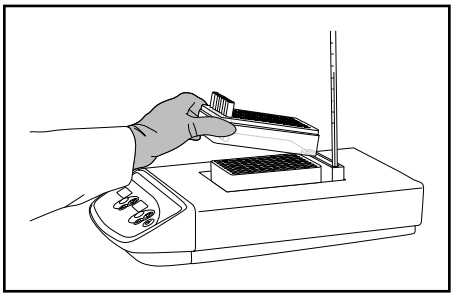
Con la ayuda de una punta de pipeta de longitud extendida, transfiera 500 µL de cada tubo del dispositivo para toma de muestras a un tubo de agrupamiento vacío correspondiente.

8.6 Una vez que se hayan transferido todas las muestras, prepare la muestra para control negativo (NC). Para ello, transfiera 500 µL de la solución amortiguadora para lisis (que preparó en el paso 3.1) a un tubo de agrupamiento vacío. No use agua como NC.

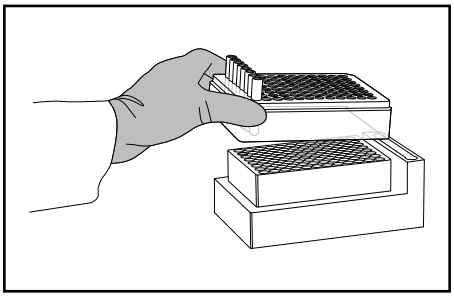
8.7 Verifique que la temperatura del inserto de bloque de calentamiento para detección molecular de Neogen sea de 100 ± 1 °C.

8.8 **Paso de calentamiento:** Coloque la gradilla descubierta de tubos de agrupamiento en el inserto del bloque de calentamiento para la detección molecular de Neogen y caliente durante 10 ±1 minutos. Durante el calentamiento, es posible que el lisado se torne turbio.

8.9 **Paso de enfriamiento:** Retire la gradilla destapada de los tubos cluster del Bloque de Calentamiento y deje que se enfríe en el Bloque de Enfriamiento de Detección Molecular de Neogen durante al menos 5 minutos y un máximo de 60 minutos. El bloque de enfriamiento molecular de Neogen, usado a temperatura ambiente, se debe colocar directamente sobre la mesa del laboratorio. Una vez frío, el lisado debe tener un aspecto transparente.



Coloque la gradilla destapada de tubos en el bloque de calentamiento para detección molecular de Neogen y caliente durante 10 ± 1 minutos. Durante el calentamiento, es posible que el lisado se torne turbio.



Retire la gradilla destapada de los tubos cluster del Bloque de Calentamiento y deje que se enfríe en el Bloque de Enfriamiento de Detección Molecular de Neogen durante al menos 5 minutos y un máximo de 60 minutos.

9. Amplificación

9.1 Se debe emplear un tubo de reactivos del ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen para cada muestra y para el paso de control negativo (NC).

9.1.1 Las tiras de tubo de reactivos se pueden cortar según la cantidad de tubos deseada. Seleccione la cantidad de tubos de reactivos o tiras individuales de 8 tubos necesarios.

9.1.2 Evite tocar los pellets del reactivo de la parte inferior de los tubos.

9.2 Retire un tubo de control de reactivos (RC) del ensayo *Listeria* Right Now y colóquelo en la gradilla.

9.3 Para el lisado de NC del ensayo LRN, seleccione un tubo de reactivos del kit de Listeria Right Now y colóquelo en la misma gradilla. Para prevenir cualquier riesgo de contaminación cruzada, destape un tubo de reactivos con tira a la vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.

9.4 Transfiera los lisados a un tubo de reactivos del kit de *Listeria* Right Now, como se describe a continuación.

9.5 Use la herramienta de aperturta/cierre del sistema detección molecular de Neogen® para destapar los tubos de reactivos, una tira de tubo de reactivo a la vez. Deseche la tapa.

9.5.1 Transfiera 50 µL de lisado de muestra de la mitad superior del líquido en el tubo (evitando el precipitado) al tubo de reactivos del ensayo *Listeria* Right Now de Neogen. Distribuya en forma angular para evitar tocar los pellets. Con la ayuda de una pipeta, mezcle con suavidad hacia arriba y hacia abajo 5 veces.

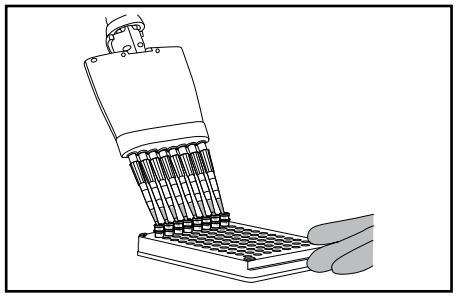
9.5.2 Repita el paso 9.5.1 hasta que se hayan añadido todas las muestras individuales de lisado a un tubo de reactivos en la tira.

9.5.3 Cubra los tubos de reactivos con las tapas adicionales provistas y use el lado redondeado de la herramienta de apertura/cierre para reactivos de detección molecular de Neogen, a fin de aplicar presión. Para ello, realice un movimiento hacia adelante y hacia atrás asegurándose de que la tapa se coloque bien.

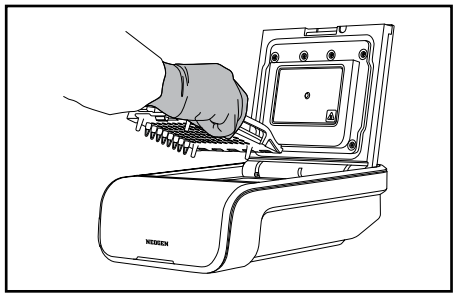
9.5.4 Repita los pasos 9.5.1 a 9.5.3, según sea necesario, para la cantidad de muestras que se probarán.

9.5.5 Una vez transferidos todos los lisados de la muestra, transfiera 50 µL del lisado de NC a un tubo de reactivos del kit de *Listeria* Right Now. Con la ayuda de una pipeta, mezcle con suavidad hacia arriba y hacia abajo 5 veces.

9.5.6 Por último, transfiera 50 µL de lisado de NC a un tubo de RC Right Now™. Con la ayuda de una pipeta, mezcle con suavidad hacia arriba y hacia abajo 5 veces.



Transfiera 50 µl de lisado de muestra desde la mitad superior del tubo de agrupamiento en el tubo de reactivos del ensayo LRN. Distribuya en ángulo para evitar tocar los pellets. Mezcle suavemente aspirando y expulsando el líquido con la pipeta 5 veces.



Cargue los tubos tapados en una bandeja de carga rápida de detección molecular de Neogen limpia y descontaminada. Ciérrelos y colóquelos en el sistema de detección molecular (MDS) de Neogen. Para iniciar el ensayo, cierre la tapa.

9.6 Cargue los tubos tapados en una bandeja de carga rápida de detección molecular de Neogen limpia y descontaminada. Cierre bien la tapa de la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen.

9.7 Revise y confirme la corrida configurada en el Software del sistema de detección molecular de Neogen.

9.8 Haga clic en el botón Inicio del software y seleccione el instrumento que desea usar. La tapa del instrumento seleccionado se abrirá automáticamente.

9.9 Coloque la bandeja de carga rápida de detección molecular de Neogen en el instrumento de detección molecular de Neogen y cierre la tapa para iniciar el ensayo. Los resultados se proporcionan en 45 minutos, aunque los positivos pueden detectarse antes.

9.10 Una vez que el ensayo esté completo, retire la bandeja de carga rápida de Detección Molecular de Neogen del instrumento de Detección Molecular y deseche los tubos al sumerjir en una solución a base de cloro de uso doméstico al 1–5 % (v:v en agua) durante 1 hora y alejado del área de preparación del ensayo.

NOTA: Para minimizar el riesgo de falsos positivos debido a la contaminación cruzada, nunca abra los tubos de reactivos que contienen ADN amplificado. Siempre deseche los tubos de reactivos cerrados por inmersión en una solución a base de cloro de uso doméstico al 1- 5 % (v:v en agua) durante 1 hora, alejado del área de preparación del ensayo. .

Resultados e interpretación

Un algoritmo interpreta la curva generada de luz resultante de la detección de amplificación de ácidos nucleicos. El software analiza automáticamente los resultados y los codifica por colores, en función del resultado. Un resultado positivo o negativo se determina mediante el análisis de una serie de parámetros de curva únicos. Los resultados positivos se informan en tiempo real, mientras que los resultados negativos se muestran una vez que el experimento está completo.

NOTA: Incluso una muestra negativa no dará una lectura de cero, ya que el sistema y los reactivos de amplificación del ensayo de detección molecular *Listeria* Right Now de Neogen tienen una lectura de unidad de luz relativa (Relative Light Unit, RLU) de “fondo”.

Tabla 2: Símbolos de los resultados de las muestras e interpretación proporcionados por el software del sistema de detección molecular de Neogen.

Tipo de pocillo	Símbolo de resultado del pocillo	Resultado	Interpretación
Muestra		Positivo	La muestra es positiva para *Listeria* spp.
Muestra		Negativo	La muestra es negativa para *Listeria* spp.
Muestra		Inhibido*	La matriz de la muestra fue inhibitora para el ensayo. Es posible que se deba repetir la prueba.
Muestra		Error*	No se detectó bioluminiscencia. Es posible que se deba repetir la prueba.

*Consulte el informe del Ensayo para obtener más detalles sobre los resultados. Si es necesario, comuníquese con su representante local de Neogen para solicitar ayuda en la resolución de problemas.

Confirmación

Los resultados presuntivos positivos que se obtienen con este método no pueden confirmarse. El usuario final puede aplicar el protocolo de limpieza adecuado y repetir la prueba. Por otro lado, si fuera necesario obtener una colonia aislada, vuelva a tomar una muestra del área de prueba y realice la prueba siguiendo los procedimientos de cultivo descritos en el capítulo 10 del Manual Analítico Bacteriológico (BAM) de la FDA[7] o en la norma ISO 11290-1[8].

Referencias

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. NF EN ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
3. Guía de Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos (BMBL, 6.ª ed.) de los CDC. Fecha de vigencia: 29 de agosto de 2025
4. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
5. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.
7. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 10: Detection of Listeria monocytogenes in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods (consultado el 22 de abril)
8. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp. - Part 1: Detection method, https://www.iso.org/standard/60313.html

Explicación de los símbolos

www.neogen.com/foodsafety/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
Auchincruive House
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Instruções do produto

Ensaio para detecção molecular Neogen® – *Listeria* Right Now™

Descrição do produto e uso pretendido

O kit de ensaio para Detecção Molecular Neogen – *Listeria* Right Now (MDALRN96) é utilizado com o sistema de Detecção Molecular Neogen® para detecção rápida e específica de espécies de *Listeria* viáveis e não viáveis. em amostras de superfícies ambientais visivelmente limpas, pós-limpeza/higienização e pré-produção, sem a necessidade de enriquecimento. Ele usa o amostrador Neogen Right Now™ incluído, úmido com uma solução de amostragem, para monitorar a *Listeria* no ambiente de instalações de fabricação de alimentos e bebidas. Este método fornece apenas resultados presuntivos e não tem a proporção de confirmação.

Este ensaio detecta RNA ribossomal (rRNA) em superfícies ambientais como indicação da presença do microrganismo-alvo. Como o rRNA pode persistir mesmo depois que o organismo não é mais viável, o método pode gerar resultados positivos em situações em que o organismo não pode ser recuperado por métodos tradicionais baseados em cultura, que detectam apenas células vivas. O ensaio usa o amostrador Neogen Right Now™ incluído, úmido com uma solução de amostragem, para monitorar a *Listeria* no ambiente de instalações de fabricação de alimentos e bebidas.

O kit de triagem contém tubos de reagentes codificados por cor, com pellets liofilizados azuis para detectar espécies de *Listeria*.

Após a coleta da amostra usando o amostrador Right Now, o conteúdo é lisado para liberar ácidos nucleicos. O RNA ribossômico é então submetido à transcrição reversa em DNA complementar (cDNA). O ensaio emprega amplificação isotérmica mediada por alça (LAMP) para amplificação rápida, altamente específica e sensível de ácidos nucleicos, com detecção bioluminescente do produto amplificado.

O Ensaio para Detecção Molecular Neogen – *Listeria* Right Now destina-se ao uso em ambiente laboratorial por profissionais treinados em técnicas laboratoriais. A Neogen não documentou o uso deste produto em outras indústrias além de alimentos ou bebidas. Por exemplo, a Neogen não documentou este produto para testar amostras farmacêuticas, cosméticas, clínicas ou veterinárias. O Ensaio para Detecção Molecular Neogen – *Listeria* Right Now não foi avaliado com todos os ambientes possíveis de processamento de alimentos ou com todas as cepas possíveis de *Listeria*. A Neogen recomenda a avaliação do método no ambiente do usuário, usando um número suficiente de amostras para desafios ambientais específicos para garantir que o método atenda aos critérios do usuário.

Use o Neogen® Right Now™ Controle de Matriz (RNMC96) pareado para demonstrar a robustez do ensaio no ambiente do usuário ao implementar o método ou durante a verificação do método.

O Instrumento para Detecção Molecular da Neogen® destina-se ao uso com amostras que foram submetidas a tratamento térmico durante a etapa de lise do ensaio, que é projetada para lisar as células e liberar os ácidos nucleicos dos organismos presentes na amostra. Amostras que não foram adequadamente tratadas termicamente durante a etapa de lise do ensaio podem ser consideradas um risco biológico em potencial e NÃO devem ser inseridas no Instrumento de Detecção Molecular Neogen.

A Neogen Food Safety é certificada pela ISO (International Organization for Standardization) 9001 para projeto e fabricação.

O kit de teste para Ensaio para detecção molecular Neogen – *Listeria* Right Now contém reagentes suficientes para 96 testes, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Componentes do kit

Item	Identificação	Quantidade	Conteúdo	Comentários
Amostrador Right Now™	Tubos com tampa azul com samplers de poliuretano	96 samplers	Amostrador úmido com 1,5 mL de solução de amostragem	Pronto para uso
Tampão de ressuspensão de reagente para lise Right Now™	Frascos plásticos transparentes	2 frascos (cada um pode reconstituir dois frascos de reagente tampão de lise)	Tampão de ressuspensão	Pronto para uso
Reagente tampão para lise Right Now™	Frascos de vidro transparentes	4 frascos (reconstituídos, cada um pode encher 28 tubos de lise)	Reagente de lise	Liofilizado
Tubos de lise (LS)	Tubos transparentes do cluster	96 (12 tiras de 8 tubos cada)	Vazio	Montado e pronto para uso
Tubos de reagente *Listeria* Right Now™	Tubos transparentes com pellets azuis	96 (3 bolsas, contendo 4 tiras de 8 tubos)	Mix específico liofilizado de amplificação e detecção	Pronto para uso
Tampas extras	Tampas transparentes	96 (12 tiras de 8 tampas)		Pronto para uso
Controle de reagente (RC) Right Now™	Tubos flip-top transparentes	16 (2 bolsas de 8 tubos individuais)	Ácido nucleico de controle liofilizado, amplificação e mix de detecção	Pronto para uso

Segurança

O usuário deve ler, compreender e seguir todas as informações de segurança nas instruções do Sistema de detecção molecular Neogen e do Ensaio para detecção molecular Neogen - *Listeria* Right Now. Guarde as instruções de segurança para referência futura.

AVISO:	Indica uma situação perigosa que, se não for evitada, poderá resultar em morte ou ferimentos graves e/ou danos materiais.
CUIDADO:	Indica uma situação perigosa que, se não for evitada, poderá resultar em ferimentos leves ou moderados e/ou danos materiais.

AVISO

Não use o Ensaio para Detecção Molecular Neogen - *Listeria* Right Now™ no diagnóstico clínico de listeriose em humanos ou animais.

O usuário deve treinar seu pessoal nas técnicas de teste adequadas e atuais, por exemplo: Boas Práticas de Laboratório[1], ISO 7218:2024[2] ou CDC Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories (BMBL)[3].

O Ensaio para Detecção Molecular Neogen – *Listeria* Right Now não foi projetado para amostragem de superfícies sujas ou para testes de matriz alimentar.

Para reduzir os riscos associados a um resultado falso-negativo que levam ao uso de superfícies contaminadas:

- Siga o protocolo e realize os testes exatamente conforme indicado nas instruções do produto.
- Sempre use Boas Práticas Laboratoriais para transferir amostras e reagentes durante a execução do método.
- Armazene o Ensaio para Detecção Molecular Neogen – *Listeria* Right Now conforme indicado na embalagem e nas instruções do produto.
- Sempre use o Ensaio para Detecção Molecular Neogen – *Listeria* Right Now até a data de validade.

- Sempre use os amostradores contidos no kit. Não use samplers de outras fontes.
- O amostrador Right Now é de uso único.
- Não faça uma pausa uma vez que a reidratação do pellet de reagente teve início.
- Recomenda-se fortemente que o pessoal do laboratório do sexo feminino seja informado do risco para um feto em desenvolvimento resultante da infecção da mãe através da exposição a *Listeria monocytogenes*.

Para reduzir os riscos associados à exposição a produtos químicos e aos riscos biológicos:

- Realize testes de patógenos em um laboratório devidamente equipado sob o controle de pessoal treinado.
- Os usuários devem limpar a superfície de contato com alimentos após a coleta do amostrador para remover qualquer solução de esfregaço restante.

Para reduzir os riscos associados à contaminação cruzada ao preparar o ensaio:

- Utilize sempre luvas (para proteger o usuário e evitar a introdução de nucleases).

Para reduzir os riscos associados à contaminação ambiental:

- Siga as regulamentações locais, regionais e nacionais quanto aos requisitos de descarte.

CUIDADO

Para reduzir os riscos associados à exposição a líquidos quentes:

- Não exceda a definição de temperatura recomendada no aquecedor.
- Não exceda o tempo de aquecimento recomendado.
- Use um termômetro calibrado apropriado para verificar a temperatura do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen® (por exemplo, um termômetro de imersão parcial ou um termômetro de termopar digital, não um termômetro de imersão total). O termômetro deve ser colocado no local designado no poço do Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular Neogen.

Para reduzir os riscos associados à contaminação cruzada ao preparar o ensaio:

- Troque as luvas antes da hidratação dos pellets reagentes.
- Recomenda-se o uso de ponteiras de pipeta longas, estéreis, com barreira contra aerossóis (filtros) e de qualidade para biologia molecular.
- Use uma ponteira de pipeta nova para cada transferência de amostra.
- Use as Boas Práticas Laboratoriais para transferir a amostra para o tubo de lise. Para evitar a contaminação cruzada entre as amostras, o usuário pode optar por limpar a haste da pipeta com um pano com alvejante a 10% e depois com uma toalha de papel limpa, ou usar ponteiras de pipeta de comprimento estendido.
- Use uma estação de trabalho de biologia molecular contendo uma lâmpada germicida, quando disponível.
- Descontamine periodicamente as bancadas e equipamentos do laboratório (pipetas, ferramentas para tampar/destampar, rack de tubos reagentes etc.) com uma solução de alvejante doméstico baseada em cloro de 1-5% (v:v em água) ou solução de remoção de ácido nucleico.

Para reduzir os riscos associados a um resultado falso-positivo:

- Nunca abra tubos reagentes pós-amplificação.
- Elimine sempre os tubos contaminados mergulhando-os em uma solução alvejante doméstica baseada em cloro a 1-5% (v:v em água) (contendo hipoclorito de sódio) durante 1 hora e longe da área de preparação do ensaio.
- Nunca autoclave os tubos reagentes pós-amplificação.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter informações adicionais e regulamentações locais para descarte.

Se tiver dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, por favor visite o nosso site em neogen.com ou entre em contato com seu representante ou distribuidor local da Neogen.

Responsabilidade do usuário

Os usuários são responsáveis por se familiarizarem com as instruções e informações do produto. Acesse nosso site em neogen.com, ou entre em contato com o representante local ou distribuidor da Neogen para obter mais informações.

Ao selecionar um método de teste, é importante reconhecer que fatores externos, como métodos de amostragem, protocolos de teste, preparação da amostra, manuseio e técnica laboratorial e a própria amostra podem influenciar os resultados.

O usuário é responsável por selecionar qualquer método de teste ou produto para avaliar um número suficiente de amostras com as matrizes e desafios microbianos adequados para satisfazer o usuário de que o método de ensaio escolhido atinge os critérios do usuário.

Também é responsabilidade do usuário determinar que quaisquer métodos e resultados de teste satisfazem os requisitos de seus clientes e fornecedores.

Como acontece com qualquer método de teste, os resultados obtidos com o uso de qualquer produto de segurança de alimentos da Neogen não constituem garantia da qualidade das amostras ou processos testados.

Para ajudar os clientes a avaliar a adequação para o propósito do método durante a implementação, a Neogen desenvolveu o kit de Controle da Matriz de Detecção Molecular Neogen® Right Now (também chamado de controle de amplificação na ISO 24914:2026[4]). Use o Controle da Matriz Right Now (RNMC96) para avaliar a interferência da matriz com os resultados do Ensaio de Detecção Molecular Neogen – *Listeria* durante a validação e verificação. Siga a norma ISO 16140-3:2021[5] e/ou o programa de garantia de qualidade da sua organização para determinar o número representativo de amostras necessárias ao verificar o desempenho do método e definir o escopo de sua aplicação em seu laboratório. O uso rotineiro do Controle da Matriz Right Now não é necessário uma vez que o método tenha sido verificado e o escopo de aplicação do laboratório seja estabelecido. Siga o programa de garantia de qualidade da sua organização para determinar, caso a caso, a necessidade do Controle da Matriz Right Now Neogen e sua frequência de uso durante testes rotineiros.

Limitação de garantias/recurso limitado

EXCETO CONFORME EXPRESSAMENTE DECLARADO EM UMA SEÇÃO DE GARANTIA LIMITADA DA EMBALAGEM INDIVIDUAL DO PRODUTO, a NEOGEN SE ISENTA DE TODAS AS GARANTIAS EXPRESSAS E IMPLÍCITAS, INCLUINDO, MAS NÃO SE LIMITANDO A, QUAISQUER GARANTIAS DE COMERCIALIZAÇÃO OU ADEQUAÇÃO A UM USO ESPECÍFICO. Se algum Produto da Neogen Food Safety apresentar defeito, a Neogen ou seu distribuidor autorizado vai, a seu critério, substituir ou reembolsar o preço de compra do produto. Estes são os reparos exclusivos. Você deve notificar imediatamente a Neogen dentro de sessenta dias após a descoberta de qualquer suspeita de defeitos em um produto e devolvê-lo à Neogen. Entre em contato com seu representante da Neogen Food Safety ou distribuidor autorizado da Neogen para qualquer dúvida adicional.

Limitação de responsabilidade da Neogen

A NEOGEN NÃO SERÁ RESPONSÁVEL POR QUAISQUER PERDAS OU DANOS, SEJAM DANOS DIRETOS, INDIRETOS, ESPECIAIS, INCIDENTAIS OU CONSEQUENCIAIS, INCLUINDO, MAS NÃO SE LIMITANDO A LUCROS CESSANTES. Em nenhuma circunstância, a responsabilidade da Neogen sob qualquer teoria legal excederá o preço de compra do produto alegadamente defeituoso.

Para consultar os termos e condições completos da Neogen, acesse: neogen.com/en/terms-and-conditions/

Armazenamento e descarte

Armazene o Ensaio para Detecção Molecular Neogen® – *Listeria* Right Now a 2–8 °C. Não congele. Mantenha o kit longe da luz durante o armazenamento.

Depois de abrir o kit, verifique se a bolsa de alumínio, o plástico e os frascos de vidro não estão danificados. Se o conteúdo do kit estiver danificado, não o use.

Após a abertura, os tubos de reagente não utilizados devem ser sempre armazenados na bolsa que pode ser selada novamente com o dessecante em seu interior para manter a estabilidade dos reagentes liofilizados. Armazene as embalagens vedadas novamente entre 2°C a 8°C por no máximo 60 dias.

Após o uso, tampe novamente o tampão de ressuspensão do reagente de lise Right Now™, até que esteja firmemente tampado.

O reagente tampão de lise reconstituído Right Now™ pode ser armazenado com tampa a 2–8°C por até 21 dias.

Se necessário, a tampa do reagente tampão de lise pode ser fixada com Parafilm®.

Nunca use o Ensaio para Detecção Molecular Neogen® – *Listeria* Right Now após a data de validade. A data de validade e o número do lote são anotados na etiqueta externa da caixa.

Quando os testes estiverem concluídos, siga as regulamentações locais, regionais e nacionais para o descarte de resíduos contaminados. Consulte a Ficha Técnica de Segurança para obter informações adicionais.

Instruções específicas para métodos validados

Certificações AOAC® *Performance Tested Methods*℠ (PTM) nº 042604

Este método recebeu a certificação AOAC® *Performance Tested Methods*℠ (PTM). Nos programas PTM℠ do AOAC Research Institute, o Ensaio de Detecção Molecular Neogen *Listeria* Right Now™ demonstrou ser um método eficaz para a detecção de **Listeria** spp. viáveis e não viáveis em superfícies de aço inoxidável (até 4" x 4").

Instruções de Uso

Siga todas as instruções cuidadosamente. Não fazer isso pode levar a resultados imprecisos.

Descontamine periodicamente as bancadas e equipamentos do laboratório (pipetas, ferramentas para tampar/destampar, rack de tubos reagentes etc.) com uma solução de alvejante doméstico baseada em cloro de 1-5% (v:v em água) ou solução de remoção de ácido nucleico.

O usuário deve concluir o treinamento de qualificação de operador (OQ) do Sistema de Detecção Molecular Neogen®, conforme descrito no documento "Protocolos e instruções de qualificação de instalação (IQ)/Qualificação operacional (OQ) para o Sistema de Detecção Molecular Neogen"[6].

1. Preparação do amostrador Right Now™

1.1 Rotule o tubo do amostrador Right Now com a identificação da amostra (ID).

1.2 Agite o tubo do amostrador Right Now duas vezes para que a solução de amostragem fique no fundo do tubo.

1.3 Abra o tubo do amostrador Right Now e pressione o amostrador na parede do tubo para remover a solução de amostragem extra.

1.4 Despeje assepticamente a solução de amostragem excedente fora do tubo.

1.5 Retorne o amostrador Right Now para o tubo vazio.

2. Coleta de amostra

2.1. Faça a amostragem na superfície aplicando o amostrador horizontal, vertical e diagonalmente para fornecer cobertura total da área de teste (1 × 1 pol a 12 × 12 pol, 2,5 × 2,5 cm a 30 × 30 cm). Vire o amostrador Right Now para o outro lado e limpe a mesma superfície amostrada.

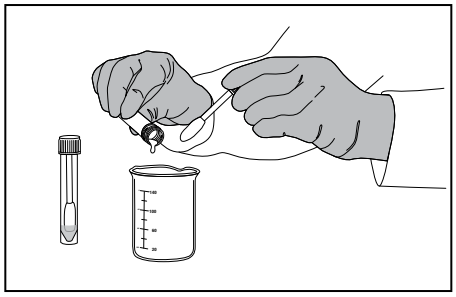
2.2. Coloque o amostrador Right Now de volta no tubo vazio.

2.3. Armazene os samplers a 2–8 °C se não estiver testando imediatamente. O amostrador Right Now pode ser mantido por até 24 horas a 2–8 °C antes do teste. A retenção de amostras está fora do escopo da validação AOAC.

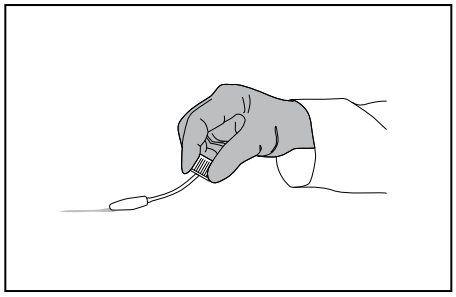
3. Preparação do reagente tampão de lise Right Now™ (enzima lítica)

3.1. Reconstitua um frasco de reagente tampão de lise Right Now™ que contém a enzima lítica liofilizada com 28 mL do tampão de ressuspensão do reagente de lise Right Now™. Agite suavemente para misturar. Deixe o tampão de lise chegar até a temperatura ambiente antes de usar.

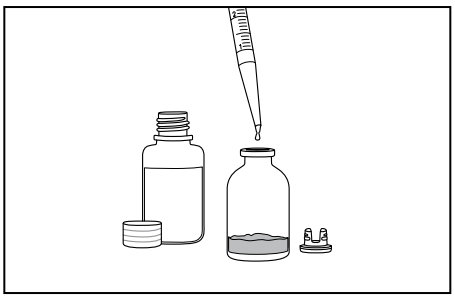
OBSERVAÇÃO: O tampão de lise reidratado pode ser armazenado a 2–8 °C por 21 dias. Escreva a data em que a enzima lítica foi preparada no frasco.



Despeje assepticamente o excesso de solução de amostragem no tubo antes de coletar a amostra.



Faça uma coleta de amostra da superfície esfregando horizontalmente, verticalmente e diagonalmente para fornecer cobertura total da área de teste (1×1 pol. a 12×12 pol.). Vire o amostrador Right Now para o outro lado e colete a mesma superfície amostrada.



Reconstitua um frasco de reagente tampão de lise (enzima lítica liofilizada) com 28 mL de tampão de ressuspensão de reagente de lise. Agite suavemente para misturar. Deixe o tampão de lise chegar até a temperatura ambiente antes de usar.

Preparação do equipamento

4. Preparação da Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular Neogen®

4.1 Umedeça um pano ou toalha descartável com uma solução de alvejante doméstico de 1-5% (v:v em água) e limpe a Bandeja do Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen.

4.2 Enxágue a Bandeja de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen com água.

4.3 Use uma toalha descartável para secar a Bandeja de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen.

4.4 Verifique se a Bandeja de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen está seca antes de usar.

Dois blocos de aquecimento/resfriamento de Detecção Molecular Neogen são necessários para este procedimento. Ambas os blocos são o mesmo produto (700000145), mas são usadas para funções diferentes.

Para maior clareza dentro do procedimento, o bloco usado na etapa de aquecimento será chamado de Bloco de Calor por Detecção Molecular, e o bloco usado para a etapa de resfriamento será chamado de Bloco de Resfriamento por Detecção Molecular. Essas designações são usadas apenas para distinguir seus papéis e não indicam produtos separados.

5. Preparação do Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular Neogen®

5.1 Coloque o Bloco de Resfriamento de Detecção Molecular Neogen direto na bancada do laboratório: Use o bloco à temperatura ambiente de laboratório.

6. Preparação do Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular Neogen®

6.1 Coloque o Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen em uma chapa de aquecimento de bloco a seco. Ligue a chapa de aquecimento de bloco seco e ajuste a temperatura para permitir que o Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen atinja e mantenha uma temperatura de 100 ± 1 °C.

OBSERVAÇÃO: Dependendo da chapa de aquecimento, aguarde aproximadamente 30 minutos para que o Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen atinja a temperatura. Usando um termômetro calibrado apropriado (por exemplo, um termômetro de imersão parcial, um termômetro de termopar digital, não um termômetro de imersão total) colocado no local designado, verifique se o Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen está a 100 ± 1 °C.

7. Preparação do Instrumento para Detecção Molecular Neogen®

7.1 Inicie o Software de Detecção Molecular Neogen® e faça login. Entre em contato com seu representante da Neogen Food Safety para garantir que você tenha a versão mais atualizada do software.

7.2 Ligue o Instrumento de Detecção Molecular Neogen.

7.3 Crie uma nova corrida ou edite uma corrida selecionando um poço para cada amostra. Consulte o Manual do Usuário do Sistema de Detecção Molecular Neogen para obter detalhes.

7.4 Para o Ensaio *Listeria* Right Now (LRN), selecione o ícone LRN no Software de Detecção Molecular da Neogen e atribua a cada poço.

7.5 Atribua o ícone LRN NC e o ícone LRN RC aos poços correspondentes dentro da corrida para o controle negativo e o controle de reagente, respectivamente.

7.6. LRN NC é configurado para cada corrida, e um LRN RC é configurado para o kit.

OBSERVAÇÃO: o Instrumento de Detecção Molecular Neogen deve atingir e manter a temperatura de 60°C antes de inserir a Bandeja de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen com tubos de reação. Esta etapa de aquecimento leva aproximadamente 20 minutos e é indicada por uma luz LARANJA na barra de status do instrumento. Quando o instrumento estiver pronto para iniciar uma corrida, a barra de status ficará VERDE.

8. Lise para o Ensaio *Listeria* Right Now™

8.1 Transfira 1 mL da solução de tampão de lise Right Now™ preparada em 3.1 para o amostrador Right Now utilizado para coletar a amostra (seção 2). Evite tocar nas laterais do tubo do amostrador Right Now. Troque as ponteiras com cada amostra para evitar a contaminação do tampão de lise.

OBSERVAÇÃO: Retorne o tampão de lise não utilizado ao refrigerador após a utilização (no prazo de 1 hora).

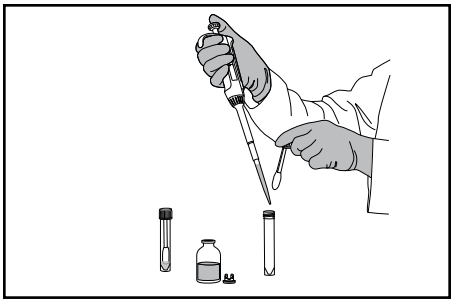
8.2 Feche a tampa do tubo. Misture o tubo do amostrador Right Now vigorosamente com um vórtex por 5 a 10 segundos para extrair a amostra do amostrador Right Now.

8.3 Coloque o número de tubos de lise vazios individuais em um rack vazio. É necessário um tubo de lise vazio para cada amostra a ser testada. Sempre inclua um tubo de cluster vazio adicional para o controle negativo (NC).

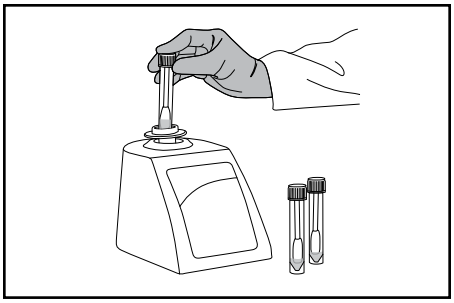
8.4 Remova o amostrador Right Now do tubo preparado na etapa 8.1 e coloque-o em sua tampa na bancada. Evite tocar no amostrador para evitar contaminação.

8.5 Transfira 500 µL de cada tubo do amostrador Right Now para um tubo de lise vazio correspondente usando uma ponteira de pipeta de comprimento estendido. Retorne o amostrador ao tubo e feche a tampa.

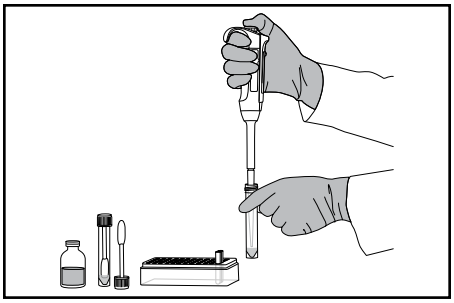
OBSERVAÇÃO: Recomenda-se ponteiras de pipeta de comprimento estendido (que são mais longas do que as ponteiras de pipeta padrão). Caso a haste da pipeta toque no tubo do amostrador Right Now, ejete a ponteira da pipeta e use uma toalha borrifada com alvejante a 1–5% para limpar completamente a haste da pipeta para evitar contaminação por contato cruzado entre as amostras.



Transfira 1 mL da solução de reagente tampão de lise Right Now™ para o amostrador Right Now™ usado para coletar a amostra. Evite tocar nas laterais do tubo do amostrador.



Feche a tampa do tubo. Misture o tubo do amostrador vigorosamente com um vórtex por 5 a 10 segundos para extrair a amostra do amostrador.



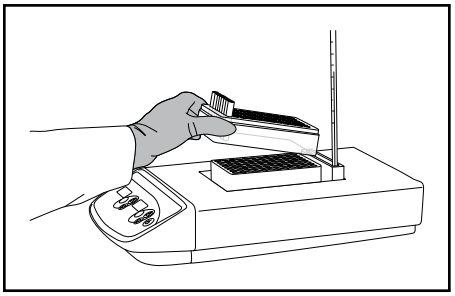
Usando uma ponteira de pipeta de comprimento estendido, transfira 500 µL de cada amostra do tubo do amostrador para o tubo de lise vazio correspondente.

8.6 Quando todas as amostras tiverem sido transferidas, prepare o NC transferindo 500 µL de tampão de lise (preparado em 3.1) para um tubo de lise vazio. Não utilize água como NC.

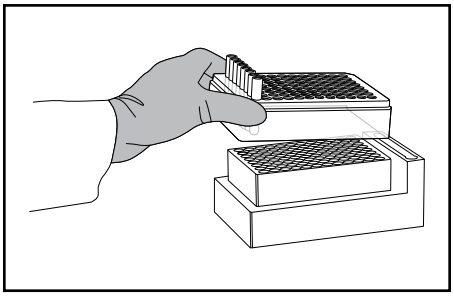
8.7 Verifique se a temperatura do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen está em 100 ± 1 °C.

8.8 **Etapa de aquecimento:** Coloque o rack de tubos de lise descoberto no bloco de aquecimento para Detecção Molecular Neogen e aqueça por 10 ± 1 minutos. Durante o aquecimento, o lisado pode ficar turvo.

8.9 **Etapa de resfriamento:** Remova o rack do cluster de tubos descoberto do bloco de aquecimento e deixe-o esfriar no bloco de resfriamento para Detecção Molecular Neogen por pelo menos 5 minutos e no máximo 60 minutos. O Inserto do bloco de resfriamento molecular Neogen, usado em temperatura ambiente, deve ficar diretamente na bancada do laboratório. Quando frio, o lisado deverá estar claro.



Coloque o rack de tubos descoberto no bloco de aquecimento para Detecção Molecular Neogen e aqueça por 10 ± 1 minutos. Durante o aquecimento, o lisado poderá ficar turvo.



Remova o rack do cluster de tubos descoberto do bloco de aquecimento e deixe-o esfriar no bloco de resfriamento para Detecção Molecular Neogen por pelo menos 5 minutos e no máximo 60 minutos.

9. Amplificação

9.1 Um tubo de reagente para o Ensaio para Detecção Molecular Neogen – *Listeria* Right Now é necessário para cada amostra e NC.

9.1.1 As tiras de tubos de reagente podem ser cortadas para o número de tubos desejados. Selecione o número de tubos de reagente individuais ou tiras de 8 tubos necessários.

9.1.2 Evite mexer nos pellets de reagentes do fundo dos tubos.

9.2 Remova um tubo de controle de reagente (RC) *Listeria* Right Now e coloque-o no rack.

9.3 Para lisado NC LRN, selecione e coloque um tubo de reagente Right Now de Listeria no mesmo rack. Para evitar contaminação cruzada, destampe uma tira de tubo de reagente de cada vez e use uma nova ponteira de pipeta para cada etapa de transferência.

9.4 Transfira os lisados para um tubo de reagente *Listeria* Right Now, conforme descrito abaixo.

9.5 Use Ferramenta tampar/destampar para detecção molecular Neogen® – Reagente para destampar os tubos de reagente, uma tira de tubos de reagente por vez. Descarte a tampa.

9.5.1 Transfira 50 µL de lisado de amostra da metade superior do líquido no tubo de lise (evite o precipitado) no tubo de reagente Neogen *Listeria* Right Now. Dispense em ângulo para não perturbar os pellets. Misture pipetando gentilmente para cima e para baixo 5 vezes.

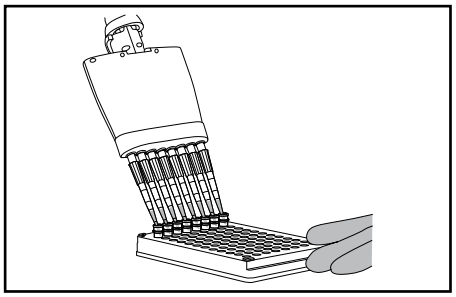
9.5.2 Repita a etapa 9.5.1 até que todo o lisado de amostra individual tenha sido adicionado a um tubo de reagente na tira.

9.5.3 Tampe os tubos de reagente com as tampas extras fornecidas e use o lado arredondado da Ferramenta de tampar/destampar dos tubos de reagente para Detecção Molecular Neogen para aplicar pressão em movimentos de frente para trás, garantindo que a tampa fique bem apertada.

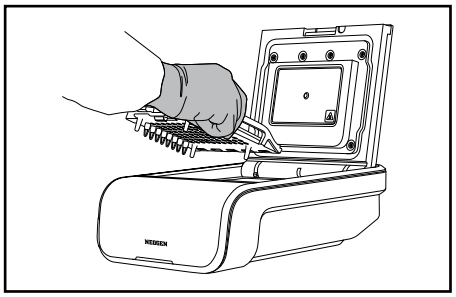
9.5.4 Repita as etapas 9.5.1 a 9.5.3 conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas.

9.5.5 Quando todos os lisados de amostra tiverem sido transferidos, transfira 50 µL do lisado NC para um tubo de reagente *Listeria* Right Now. Misture pipetando suavemente para cima e para baixo 5 vezes.

9.5.6 Finalmente, transfira 50 µL de lisado NC para um Controle de reagente (RC) Right Now™. Misture pipetando gentilmente para cima e para baixo 5 vezes.



Transfira 50 µL de lisado de amostra da metade superior do tubo de lise no tubo de reagente LRN. Dispense em ângulo para não perturbar os pellets. Misture pipetando gentilmente para cima e para baixo 5 vezes.



Coloque tubos tampados em uma bandeja limpa e descontaminada de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen. Feche e coloque-a no MDS Neogen. Feche a tampa para iniciar o ensaio

9.6 Coloque tubos tampados em uma bandeja limpa e descontaminada de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen. Feche e trave tampa da Bandeja de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen.

9.7 Revise e confirme a execução configurada no Software do Sistema de Detecção Molecular Neogen.

9.8 Clique no botão Iniciar no software e selecione o instrumento a ser usado. A tampa do instrumento selecionado abre automaticamente.

9.9 Coloque a Bandeja de Carga Rápida de Detecção Molecular Neogen no instrumento de Detecção Molecular Neogen e feche a tampa para iniciar o ensaio. Os resultados são fornecidos dentro de 45 minutos, embora os positivos possam ser detectados mais cedo.

9.10 Após a conclusão do ensaio, remova a Bandeja do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen do Instrumento de Detecção Molecular Neogen e descarte os tubos mergulhando-os em uma solução de alvejante doméstico baseada em cloro de 1 a 5% (v:v em água) por 1 hora e longe do área de preparação do ensaio.

OBSERVAÇÃO: para minimizar o risco de falsos-positivos devido à contaminação cruzada, nunca abra tubos reagentes contendo DNA amplificado. Descarte sempre os tubos de regantes vedados mergulhando-os em uma solução alvejante doméstica baseada em cloro a 1-5% (v:v em água) durante 1 hora e longe da área de preparação do ensaio.

Resultados e interpretação

Um algoritmo interpreta a curva de emissão de luz resultante da detecção da amplificação do ácido nucleico. Os resultados são analisados automaticamente pelo software e são codificados por cores com base no resultado. Um resultado Positivo ou Negativo é determinado pela análise de uma série de parâmetros de curva únicos. Os resultados positivos são relatados em tempo real, enquanto os resultados negativos serão exibidos após a conclusão da execução.

OBSERVAÇÃO: Mesmo uma amostra negativa não fornecerá uma leitura zero, pois o sistema e os reagentes de amplificação do Ensaio para Detecção Molecular Neogen - *Listeria* Right Now têm uma leitura de unidade de luz relativa (RLU) de “fundo”.

Tabela 2: Símbolos de resultados para amostras e interpretação conforme fornecido pelo Software do Sistema para Detecção Molecular da Neogen.

Tipo de poço	Símbolo do resultado do poço	Resultado	Interpretação
Amostra		Positivo	A amostra é positiva para *Listeria* spp.
Amostra		Negativo	A amostra é negativa para *Listeria* spp.
Amostra		Inibido	A matriz da amostra foi inibitória para o ensaio. Pode ser necessário um novo teste.
Amostra		Erro	Nenhuma bioluminescência foi detectada. Pode ser necessário um novo teste.

*Consulte o relatório do ensaio para obter mais detalhes sobre os resultados. Se necessário, entre em contato com seu representante local da Neogen para solicitar ajuda com a resolução de problemas.

Confirmação

Resultados presuntivos positivos obtidos com esse método não podem ser confirmados. O usuário final pode implementar o protocolo de limpeza apropriado e testar novamente. Ou, se for necessária uma colônia isolada, faça novamente a coleta com o amostrador na área de teste e realize a análise utilizando os procedimentos de cultura descritos no FDA BAM Ch. 10[7] ou ISO 11290-1[8].

Referências

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. NF EN ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
3. Guía de Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos (BMBL, 6.ª ed.) de los CDC. Fecha de vigencia: 29 de agosto de 2025
4. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
5. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.
7. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 10: Detection of Listeria monocytogenes in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods (consultado el 22 de abril)
8. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp. - Part 1: Detection method, https://www.iso.org/standard/60313.html

Explicação dos símbolos

www.neogen.com/foodsafety/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
Auchincruive House
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

JP (日本語)

製品説明

Neogen® 病原菌検出アッセイ - *Listeria* Right Now™

製品の概要および用途

Neogen 病原菌検出アッセイ Right Now リステリア属菌 環境モニタリング用 (MDALRN96) キットをNeogen® 病原菌検出システムで使用することにより、目視で清浄と判断される洗浄殺菌処理後および製造前の環境表面の検体中に存在する生存および死滅したリステリア属菌を、増菌培養する必要なく迅速かつ特異的に検出することができます。を増菌培養する必要なく迅速かつ特異的に検出することができます。付属のNeogen Right Now™ サンプラーを使用して、食品・飲料製造施設からの環境中の *Listeria* spp.をモニタリングします。この方法は、推定結果のみを提供し、確認を目的としたものではありません。

このアッセイは、対象の微生物の存在を示す環境表面上のリボソーム RNA (rRNA) を検出します。rRNA は菌が生存不能になった後も残存する可能性があるため、生菌のみを検出する従来の培養法では菌を回収できない場合でも、陽性結果が得られることがあります。アッセイは、サンプリング溶液で濡らした付属の Neogen Right Now™ サンプラーを使用して、食品・飲料製造施設における環境中のリステリア属菌をモニタリングします。

スクリーニングキットには、リステリア属菌を検出するための青色に色分けされた凍結乾燥ペレットが入った試薬チューブが含まれています。

Right Now サンプラーを使用して検体を採取した後、内容物を溶解して核酸を放出させます。次に、リボソームRNAを相補的DNA (cDNA) に逆転写します。このアッセイでは、等温核酸増幅法 (LAMP法) を用いて、迅速に高い特異性と感度で核酸増幅を行い、増幅生成物による生物発光を検出します。

Neogen 病原菌検出アッセイ Right Now (TM) リステリア属菌 環境モニタリング用は、検査技術の訓練を受けた技術者が検査室環境で使用することを想定しています。Neogenは、食品または飲料以外の産業における本製品の使用に関しては検証しておりません。Neogenは、本製品について医薬品、化粧品、臨床または獣医診断検体の検査で使用することについて検証しておりません。Neogen 病原菌検出アッセイ Right Now リステリア属菌 環境モニタリング用は、考えられるすべての食品加工環境または考えられるすべての リステリア株で評価されているわけではありません。Neogenは、検査方法がお客様の基準を満たすように、お客様の環境におい特定の食品および菌株を用いて十分な数の検体で検査方法を評価することを推奨します。

Neogen® Right Now™ マトリックス コントロール (RNMC96) を用いることで、検査方法の導入時または検査方法の検証において、お客様の環境下で検査方法の堅牢性を実証します。

Neogen® 病原菌自動検出システムは、アッセイのライシスステップ中に熱処理を行った検体を測定することを目的としており、検体中に存在する菌から核酸を放出するように設計されています。アッセイのライシスステップ中に適切な熱処理を行っていない検体は、潜在的バイオハザードと考えられる場合があるので、Neogen病原菌自動検出システムの装置内には入れないでください。

Neogen 食品衛生管理部門は、設計と製造において ISO (国際標準化機構) 9001認証を取得しています。

Neogen 病原菌検出アッセイ Right Now (TM) リステリア属菌 環境モニタリング用には、表1に記載のとおり、96 回分の試薬が含まれています。

表1. キットの内容

品目	特徴	数量	内容	コメント
Right Now™ サンプラー	ポリウレタンサンプラー付き青キャップチューブ	96本	サンプラー（1.5 mL のサンプリング溶液含浸）	調製済み
Right Now™ ライシス懸濁バッファー	クリアプラスチックボトル	2本 (各ボトルはそれぞれ溶解可能)	懸濁バッファー	調製済み
Right Now™ ライシスバッファー試薬	クリアガラスボトル	4 本 (再溶解、ライシス試薬 28 本分)	ライシス試薬	凍結乾燥済み
ライシス (LS)チューブ	透明クラスターチューブ	96検査分 (8連チューブ、12セット)	空	調製済み
Listeria Right Now™ 用試薬チューブ	クリアチューブに入った青色のペレット	96検査分 (8連チューブ、3セット入り4パウチ)	凍結乾燥済み特異的増幅試薬および検出試薬	調製済み
予備のキャップ	クリアキャップ	96検査分 (8連チューブ、12セット)		調製済み
Right Now™ 試薬コントロール (RC)	フリップトップ式クリアチューブ	16検査分(チューブ8本入り2パウチ)	凍結乾燥済みコントロール DNA、増幅試薬および検出試薬	調製済み

安全性

説明書に記載されている Neogen 病原菌検出アッセイ Right Now (TM) リステリア属菌 環境モニタリング用のすべての安全情報を読み、理解し、遵守してください。また、今後参照できるように、この安全性指示を保管しておいてください。

⚠ **警告:**	警告は、それを避けなければ死亡または傷害ないし物的損害が発生しうる危険な状況を示します。
⚠ **注意:**	回避できない場合、物的損害が起こり得る危険な状況を示します。

⚠
警告

Neogen 病原菌検出アッセイ Right Now™ リステリア属菌 環境モニタリング用は、ヒトまたは動物のリステリア症の臨床診断には使用しないでください。

検査実施担当者に適切な検査技術を身につけるように指導してください。（例: Good Laboratory Practices[1]、ISO 7218:2024[2]、または CDC の微生物学および生物医学研究室におけるバイオセーフティ (BMBL)[3]。

Neogen病原菌検出アッセイ Right Now (TM) リステリア属菌 環境モニタリング用は、汚れた環境表面のサンプリングや食品マトリックスの検査用には設計されていません。

偽陰性の結果により汚染された表面が使用されることに伴うリスクを低減するために、次の手順に従ってください。

- プロトコルに従い、製品情報に記載されているとおりに検査を行ってください。
- 試験中は必ずGLP (Good Laboratory Practice) に従い検体や試薬を移してください。
- Neogen 病原菌検出アッセイ Right Now (TM) リステリア属菌 環境モニタリング用は、外箱表示および製品情報に記載のとおりに保管してください。
- Neogen 病原菌検出アッセイ Right Now (TM) リステリア属菌 環境モニタリング用は、有効期限までに必ず使用してください。
- 必ずキットに含まれているサンプラーを使用してください。他のサンプラーは使用しないでください。
- Right Now サンプラーは使い捨てです。
- 試薬ペレットの溶解後は、試験を途中で止めないでください。
- 女性の検査員には、*Listeria monocytogenes*への曝露による母親の感染に起因する発育中の胎児へのリスクについて知らせることを強く推奨します。

化学物質やバイオハザードへの曝露に伴う危険を回避するために:

- 技能訓練を受けた検査実施担当者の管理下で、適切な設備のある検査室でにて食中毒菌検査を行ってください。
- サンプリング後は食品接触面を洗浄し、残っているスワブ溶液を取り除いてください。

アッセイ準備中の交差汚染に伴う危険を回避するために:

- 手袋を必ず着用してください (お客様を保護し、ヌクレアーゼの侵入を防ぐため)。

環境汚染に関連するリスクを軽減する方法:

- 廃棄に関する要件については、地方、地域、および国の規制に従ってください。

注意

高温の液体への曝露に伴う危険を回避するために:

- ヒーターの温度設定を推奨温度以上にしないでください。
- 推奨される加熱時間を超えないようにしてください。
- 適切な校正済みの温度計を使用して、Neogen® 病原菌検出ブロックインサートの温度を確認してください (例: 浸線付温度計またはデジタル熱電対温度計。全浸没温度計は使用しないこと)。温度計は、必ずNeogen病原菌検出ヒートブロックインサートの指定の部位に設置してください。

アッセイ準備中の交差汚染に伴う危険を回避するために:

- 試薬ペレットを水和する前に手袋を交換してください。
- 滅菌済みのエアロゾルバリア材（フィルター付）、分子生物学グレードのピペットチップの使用を推奨します。
- 検体ごとに新しいピペットチップを使用してください。
- GLP (Good Laboratory Practice) に従い、検体をライシスチューブに移してください。検体間の相互汚染を避けるために、10% 漂白剤を塗布したワイプでピペットのシャフトを拭いた後にきれいなペーパータオルで拭くか、ロングチップを使用してください。
- 利用可能な場合は、殺菌灯が装備された病原菌取扱エリアを使用してください。
- 実験台と器具 (ピペット、キャップ/デキャップ ツール、試薬チューブ ラックなど) の汚染を 1〜5% (水中 v:v) の塩素系家庭用漂白剤または核酸除去溶液で定期的に除去してください。

偽陽性の結果に伴う危険を回避するために:

- 増幅後は試薬チューブを開けないでください。

汚染されたチューブは必ず 1 〜 5% (水中 v:v) の塩素系家庭用漂白剤溶液 (次亜塩素酸ナトリウム含有) に 1 時間浸して、アッセイ準備エリアから離れた場所に廃棄してください。

- 増幅後の試薬チューブは絶対にオートクレーブで加熱滅菌処理しないでください。

廃棄に関する詳細および行政の規制については、安全データシートをご参照ください。

具体的な用途や手順についてご質問がありましたら、当社ウェブサイト (neogen.com) をご覧いただくか、Neogen販売担当者または取り扱い販売店までお問い合わせください。

お客様の使用責任

お客様には、使用前に製品説明書および製品情報を熟知していただく責任があります。詳細につきましては、当社ウェブサイト (neogen.com) をご覧いただくか、お近くのNeogen販売担当者または販売店にお問い合わせください。

検査方法を選択する際には、サンプリング方法、検査プロトコル、検体の準備、取り扱い、検査手技、検体などの外的要因が結果に影響することを認識することが重要です。

検査方法または製品を選択する際に、適切なマトリックスおよび菌株を用いて十分数の検体を評価し、選択した方法が基準を満たすことをお客様の責任でご確認ください。

また、検査方法および結果が顧客またはサプライヤーの要件を満たしているかどうかについても、事前にお客様の責任でご確認ください。

どの検査方法を使用した場合でも、Neogen食品衛生管理製品を用いて得られた結果は、検査を実施したマトリックスまたは工程の質を保証するものではありません。

実施時に手法の適合度を評価するために、Neogen は Neogen® 病原菌検出アッセイ Right Now マトリックスコントロール キット (ISO 24914:2026[4]では増幅コントロールとも呼ばれる) を開発しました。Right Now マトリックスコントロール (RNMC96) を用いて、妥当性確認および検証の際に Neogen 病原菌検出アッセイ Right Now リステリア属菌の結果に対するマトリックス干渉を評価します。ISO 16140-3:2021[5] 規格および/または御社の品質保証プログラムに従い、方法の性能検証や実験室での適用範囲を定義する際に必要な代表的な検体数を決定してください。方法が検証され、実験室での適用範囲が確定した後は、Right Now マトリックスコントロールの日常的な使用は不要です。御社の品質保証プログラムに従い、日常的な検査において Neogen Right Now マトリックスコントロールが必要かどうか、またその使用頻度をケースバイケースで判断してください。

保証の範囲/賠償の制限

個々の製品パッケージの限定保証条項に明示的に記載されている場合を除き、Neogenは、明示または黙示を問わず、商品性または特定の目的への適合性に関する保証を含むがこれに限定されない、いかなる種類の保証も負いかねます。Neogen食品衛生管理部門の製品に欠陥があった場合、Neogenまたはその指定代理店で交換あるいは製品購入価格の払い戻しをいたします。対応は上記のみとさせていただきます。製品の欠陥が疑われる場合は、判明した時点から60日以内に速やかに Neogenに通知し、製品をNeogenに返品する必要があります。ご不明な点がございましたら、Neogen販売担当者または販売代理店にお問い合わせください。

Neogenの保証責任範囲

Neogenは、直接的、間接的、特殊なもの、偶発的または必然的であるかを問わず、利益損失を含むがこれに限定されないあらゆる損失または損害に対しての責任を負わないものとします。いかなる場合も、いかなる法的理論の下でも、Neogen保証責任範囲は、欠陥と申し立てれた製品の購入金額を超えないものとします。

Neogen の利用規約の全文については、neogen.com/en/terms-and-conditions/ をご覧ください。

保管と廃棄

Neogen® 病原菌検出アッセイ Right Now ™ リステリア属菌 環境モニタリング用は 2〜8°C で保管してください。冷凍しないでください。冷暗所で保管してください。

キット開封後は、ホイルパウチ、プラスチック、ガラス瓶が破損していないことを確認してください。キットの内容物が破損している場合は、使用しないでください。

開封後、使用しない試薬チューブは凍結乾燥試薬の安定性を保つため、乾燥剤と共に再密閉可能なパウチ内に必ず保管してください。封をしたパウチは2〜8 °Cで60日間保管できます。

使用後は、Right Now™ ライシス懸濁バッファーのキャップをしっかりと閉まるまで再度閉めます。

Right Now™ ライシスバッファー試薬は、2〜8°C で最大 21 日間保存できます。

必要に応じて、ライシスバッファー試薬のキャップをパラフィルム® でさらに保護します。

有効期限を過ぎた Neogen® 病原菌検出アッセイ Right Now ™ リステリア属菌 環境モニタリング用は、使用しないでください。有効期限とロット番号は、箱の外側のラベルに記載されています。

検査が完了したら、汚染廃棄物の処分に関する地方、地域、国の規制に従ってください。 詳細については、安全データシートを参照してください。

妥当性確認された方法に関する具体的な指示

AOAC® *Performance Tested Methods℠* (PTM) 認証 #042604

この手法は AOAC® *Performance Tested Methods℠* (PTM) 認証を取得しています。Neogen 病原菌検出アッセイ Right Now™ リステリア属菌は、AOAC Research Institute の PTM℠ プログラムにおいて、ステンレススチール表面（最大4 × 4 インチ）上の生存および非生存リステリア属菌（*Listeria* spp.）を検出する有効な手法であることが実証されています。

使用方法

すべての指示に注意深く従ってください。従わない場合、正確な結果が得られないことがあります。

実験台と器具 (ピペット、キャップ/デキャップ ツール、試薬チューブラックなど) の汚染を 1〜5% (水中 v:v) の塩素系家庭用漂白剤または核酸除去溶液で定期的に除去してください。

ユーザーは、「Neogen 病原菌検出システムの設置適格性 (IQ)/実施適格性 (OQ) プロトコルと手順」文書 [6] に記載されている Neogen® 病原菌検出システムオペレーター資格 (OQ) トレーニングを修了する必要があります。

1. Right Now™ サンプラーの準備

1.1 Right Now サンプラーにサンプルID をラベル付けします。

1.2 Right Now サンプラーを 2回反転させて、サンプリング溶液をチューブの底に落とします。

1.3 Right Nowサンプラーチューブを開け、サンプラーをチューブ内壁に押し当てて余分なサンプリング溶液を取り除きます。

1.4 無菌的に余分なサンプリング溶液をチューブから捨てます。

1.5 Right Now サンプラーを空のチューブに戻します。

2. 検体採取

2.1. 検査エリア (1 × 1 インチから 12 × 12 インチ、2.5 × 2.5 cm から 30 × 30 cm) 全体の表面を、水平、垂直、斜めにスワブで拭き取ってサンプリングします。Right Now サンプラーを反対側に反転させ、同じサンプリング面をスワブで拭き取ります。

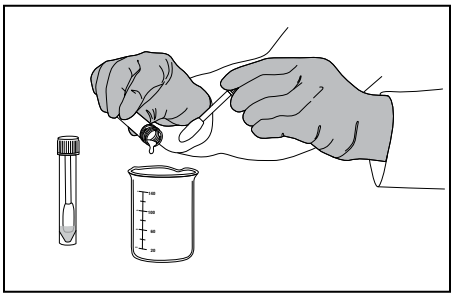
2.2. Right Now サンプラーを空のチューブに入れ直します。

2.3. すぐに検査しない場合はサンプラーを 2〜8°Cで保存してください。Right Now サンプラーは、検査を行うまで 2〜8°C で最大 24 時間保持できます。サンプルの保持は、AOACの妥当性確認の対象外です。

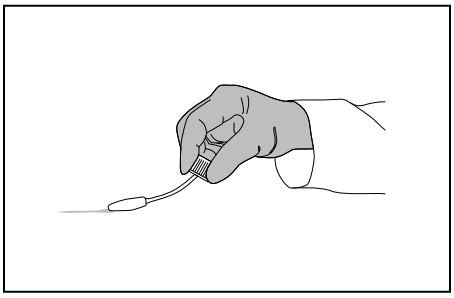
3. Right Now™ ライシスバッファー試薬 (ライシス酵素) の調製

3.1. 凍結乾燥ライシス酵素を含むRight Now™ ライシスバッファー 試薬1本を、28 mLのRight Now™ ライシス懸濁バッファーで再溶解します。静かに混和します。ライシスバッファー試薬は、室温まで温めてから使用してください。

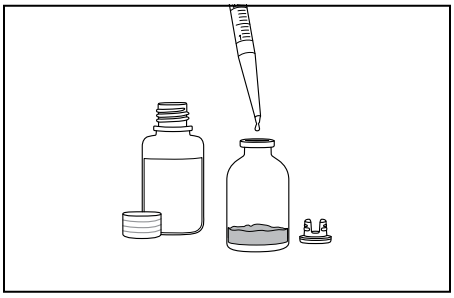
注: 水和したライシスバッファーは、2〜8°C で 21日間保存できます。調製した日付をバイアルに記入します。



スワブで拭く前に、チューブ内の余分なサンプリング溶液を無菌的に捨てます。



検査エリア (1×1 インチから 12×12 インチ) 全体の表面を、水平、垂直、斜めにスワブで拭き取ってサンプリングします。Right Now サンプラーを反対側に反転させ、同じサンプリング面をスワブで拭き取ります。



ライシスバッファー試薬 (凍結乾燥ライシス酵素) 1本を 28 mL のライシス懸濁バッファーで再溶解します。静かに混合します。ライシスバッファーは、室温まで温めてから使用してください。

装置の準備

4. Neogen® 病原菌検出スピードローダートレイの準備

4.1 水で1〜5% (v/v) に希釈した家庭用漂白液で湿らせた布または使い捨てタオルを使い、Neogen 病原菌検出スピードローダートレイを拭きます。

4.2 水でNeogen® 病原菌検出スピードローダートレイを濯ぎます。

4.3 使い捨てペーパータオル等で、Neogen病原菌検出スピードローダートレイを拭きます。

4.4 使用前に、Neogen® 病原菌検出スピードローダートレイが乾いていることを確認してください。

この手順には 2 つの Neogen 病原菌検出ヒート/チルブロックインサートが必要です。いずれのインサートも同じ製品 (700000145) ですが、用途は異なります。

手順を明確にするため、加熱工程で使用されるインサートを「病原菌検出ヒートブロックインサート」、冷却工程で使用されるインサートを「病原菌検出チルブロックインサート」と呼びます。これらの名称は役割を区別するためにのみ使用され、別個の製品を示すものではありません。

5. Neogen® 病原菌検出チルブロックインサートの準備

5.1 Neogen病原菌検出チルブロックインサートを作業台の上に直に置きます。ブロックは検査室の常温で使用してください。

6. Neogen® 病原菌検出ヒートブロックインサートの準備

6.1 Neogen病原菌検出ヒートブロックインサートをドライブロックヒーターに入れます。ドライブロックヒーターの電源を入れ、温度を100 ± 1 °Cに設定します。Neogen 病原菌検出ヒートブロックインサートが設定温度に達したら、温度を保持します。

注: 使用するヒーターの機種によって、Neogen病原菌検出ヒートブロックインサートが設定温度に達するまでに約30分かかる場合があります。適切な校正済みの温度計 (例: 浸線温度計またはデジタル熱電対温度計。全浸没温度計は使用しないこと) を指定場所に置き、Neogen病原菌検出ヒートブロックインサートが 100 ± 1 °C であることを確認します。

7. Neogen® 病原菌自動検出システムの準備

7.1 Neogen® 病原菌検出システム用ソフトウェアを起動しログインします。お使いのソフトウェアが最新バージョンであるかどうかを確認するには、Neogen販売担当者までお問い合わせください。

7.2 Neogen病原菌自動検出システムの電源を入れます。

7.3 新しいランを作成するか、各検体のウェルを選択してランを編集します。詳細については、『Neogen 病原菌自動検出システムユーザーマニュアル』を参照してください。

7.4 *Listeria* Right Now (LRN) アッセイでは、Neogen病原菌検出システムソフトウェアで LRN アイコンを選択し、各ウェルに割り当てます。

7.5 LRN NCアイコンと LRN RCアイコンを、陰性コントロールと試薬コントロールのラン内の対応するウェルにそれぞれ割り当てます。

7.6. LRN NCが各ランに設定され、ひとつのLRN RCがキットに設定されます。

注: Neogen 病原菌自動検出システムは、反応チューブとNeogen病原菌検出スピードローダートレイを入れる前に、60 °C に達している必要があります。この加熱ステップには約 20 分かかり、装置のステータスバーがオレンジ色に点灯します。ランを開始する準備が整うと、ステータスバーが緑色に変わります。

8. *Right Now (TM)* リステリア属菌 環境モニタリング用 アッセイのライシス

8.1 3.1 で調製した Right Now™ ライシスバッファー溶液 1 mL を、検体採取 (セクション 2) に使用した Right Now サンプラーに移します。Right Now サンプラーの側面に触れないでください。検体ごとにチップを交換して、ライシスバッファーの汚染を防ぎます。

注: 未使用のライシスバッファーは、使用後 (1 時間以内) に冷蔵庫に戻してください。

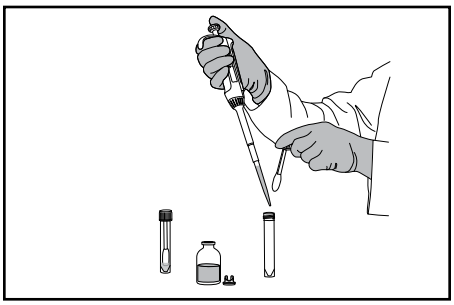
8.2 チューブのキャップを閉じます。Right Nowサンプラーをボルテックスミキサーで 5〜10 秒間激しく混合し、Right Nowサンプラーからサンプルを抽出します。

8.3 検査する検体数に応じて、ライシスチューブをラックに取り出します。各検体につきライシスチューブ1本が必要です。陰性コントロール (NC) 用の空のクラスターチューブを必ず追加します。

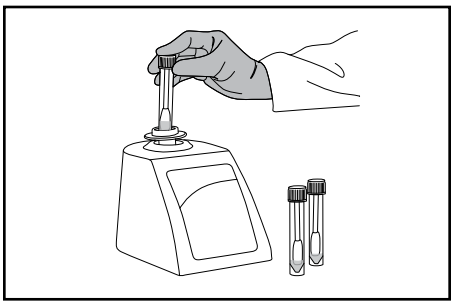
8.4 8.1 で準備したチューブから Right Now サンプラーを取り外し、ベンチのキャップに立てます。汚染を防ぐために、サンプラーには触れないでください。

8.5 各Right Now サンプラーから 500 µL ずつ、ロングピペットチップを使用してライシスチューブに分注します。サンプラーをチューブに戻し、キャップを締めます。

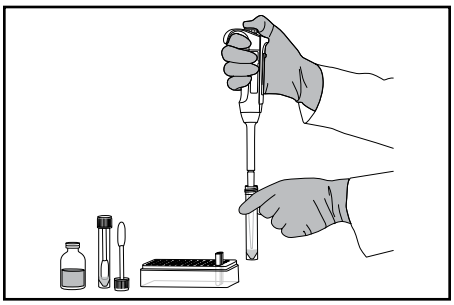
注: ロングピペットチップ(標準のピペットチップよりも長いもの) の使用を推奨します。ピペットのシャフトがRight Now サンプラーに触れた場合は、チップを外し、1〜5%に希釈した家庭用漂白液で湿らせたタオルを使用してシャフトを十分に拭いて検体間の交差接触汚染を防いでください。



1 mLの Right™ Now ライシスバッファー試薬溶液を、検体採取に使用したRight™ Now サンプラーに移します。サンプラーの側面に触れないでください。



サンプラーのキャップを閉じます。サンプラーをボルテックスミキサーで5〜10秒間激しく混合し、サンプラーから検体を抽出します。



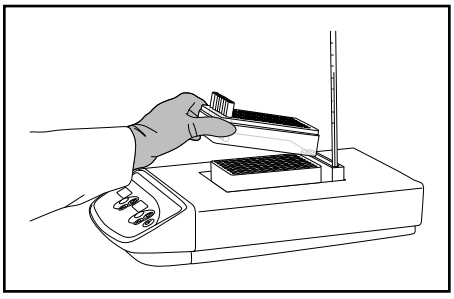
ロングピペットチップを使用して、各サンプル 500 µL ずつをサンプラーから対応するライシスチューブに移します。

8.6 すべての検体を移し終えたら、500 µL のライシスバッファー (3.1 で調製) をライシスチューブ移し、 NC（ネガティブコントロール） として調製します。水を陰性コントロールとして使用しないでください。

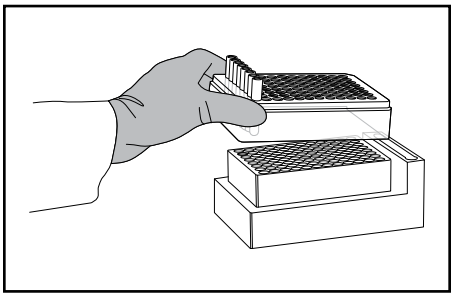
8.7 Neogen 病原菌検出ヒートブロックインサートの温度が100 ± 1 °C であることを確認してください。

8.8 **加熱工程:** Neogen病原菌検出ヒートブロックインサート内にカバーを外したライシスチューブラックを入れ、10±1分間加熱します。加熱中、ライシス液が濁ることがあります。

8.9 **冷却工程:** 覆われていないクラスターチューブのラックを加熱ブロックから取り出し、Neogen 病原菌検出チルブロックインサートで少なくとも 5 分間、最長 60 分間ラックを冷却します。Neogen病原菌検出チルブロックインサートは、実験台の上に置いてください。冷却されるとライシス液は透明になります。



Neogen病原菌検出ヒートブロックインサート内にカバーを外したライシスチューブラックを入れ、10±1分間加熱します。加熱中、ライシス液が濁ることがあります。



覆われていないクラスターチューブのラックを加熱ブロックから取り出し、Neogen 病原菌検出チルブロックインサートで少なくとも 5 分間、最長 60 分間ラックを冷却します。

9. 増幅

9.1 検体およびNCそれぞれにつきNeogen 病原菌検出アッセイ Right Now (TM) リステリア属菌 環境モニタリング用試薬チューブ1本が必要です。

9.1.1 チューブストリップは、必要な数に合わせてカットできます。試薬チューブまたは8連チューブのストリップの数を選択してください。

9.1.2 チューブの底にある試薬ペレットを攪拌しないでください。

9.2 Right Now 試薬コントロール (RC) チューブ1本を取り外し、ラックに入れます。

9.3 LRN NCライセートの場合は、Listeria Right Now 試薬チューブを 1 本選択して同じラックに入れます。交差汚染を避けるため、試薬チューブストリップのキャップをひとつずつ外し、分注ごとに新しいピペットチップを使用してください。

9.4 下記のように、ライシス液を *Listeria* Right Now 試薬チューブに移します。

9.5 Neogen® 病原菌検出キャップ/デキャップ ツール-試薬を使用して、試薬チューブストリップのキャップを一つずつ外します。キャップは廃棄します。

9.5.1 検体ライシスチューブ内の液体の上部1/2から沈殿物を避けて50 µL取り、Neogen *Listeria* Right Now 試薬チューブに分注します。ペレットが攪拌されないように、一定の角度で分注してください。ピペット操作で5回静かに混和します。

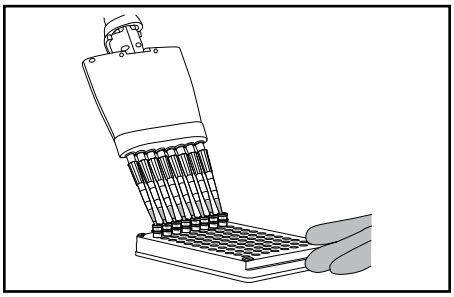
9.5.2 ステップ 9.5.1 を繰り返し、すべての検体ライシス液を試薬チューブに加えます。

9.5.3 付属の予備キャップを用いて試薬チューブの蓋をし、Neogen 病原菌検出キャップ/デキャップ ツール試薬用の丸い側を使用して圧をかけ、キャップをしっかりと締めます。

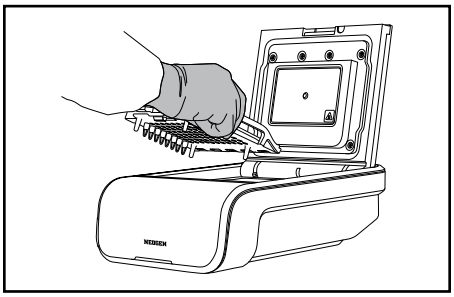
9.5.4 検査する検体数に応じて、ステップ 9.5.1〜9.5.3 を繰り返します。

9.5.5 すべての検体ライシス液を分注したら、NCライシス液 50 µL を *Listeria* Right Now試薬チューブ1本に分注します。ピペット操作で5回静かに混和します。

9.5.6 最後に、50 µL のNC溶菌液を Right Now™ 試薬コントロール (RC) に移します。ピペット操作で5 回静かに混和します。



検体ライシスチューブ内の液体の上部1/2から沈殿物を避けて50 µL取り、Neogen Listeria Right Now 試薬チューブに分注します。ペレットが攪拌されないように、一定の角度で分注してください。ピペット操作で5回静かに混和します。



キャップを付けたチューブを清潔で除染された Neogen 病原菌検出スピードローダートレイに載せます。Neogen病原菌自動検出システムに置き、装置の蓋を閉めます。蓋を閉めた後、アッセイを開始します

9.6 キャップを付けたチューブを清潔で除染された Neogen 病原菌検出スピードローダートレイに載せます。Neogen 病原菌検出スピードローダートレイの蓋を閉め、留め金をかけます。

9.7 設定済みのランを Neogen 病原菌検出システムのソフトウェアでレビューし、確定します。

9.8 ソフトウェアの [Start (開始)] ボタンをクリックし、使用する装置を選択します。選択した装置の蓋が自動的に開きます。

9.9 Neogen病原菌検出スピードローダートレイをNeogen病原菌自動検出システムに置き、蓋を閉めてアッセイを開始します。結果は45分以内ほどで判定されますが、陽性はそれより早く検出されます。

9.10 アッセイ完了後、Neogen 病原菌検出スピード ローダー トレイを Neogen 病原菌検出装置から取り出し、チューブを 1〜5% (水中 v:v) の塩素系家庭用漂白剤溶液に 1 時間浸して、アッセイ準備エリアから離れた場所に廃棄します。

注: 交差汚染による偽陽性の危険を最小限に抑えるため、増幅DNAの入った試薬チューブは絶対に開けないでください。密封された試薬チューブは必ず 1〜5% (水中 v:v) の塩素系家庭用漂白剤溶液に 1 時間浸して、アッセイ準備エリアから離れた場所に廃棄してください。

結果と解釈

核酸増幅を検出した結果として生じる光出力曲線は、所定のアルゴリズムにより解釈されます。結果はソフトウェアによって自動的に解析され、結果に応じて色分けされます。陽性または陰性の結果は、それぞれが持ついくつかの固有の曲線パラメータを解析することにより判定されます。陽性と推定される結果はリアルタイムで確認できますが、陰性の場合はラン完了後に表示されます。

注: 陰性検体がシステムとして0を返さない場合でも、病原菌検出アッセイ Right Now (TM) リステリア属菌 環境モニタリング用試薬はバックグラウンド相対発光量 (RLU) を有します。

表 2: Neogen病原菌検出システムソフトウェア結果の記号と情報

ウェルタイプ	ウェルの結果の記号	結果	判定
検体		陽性	検体は *Listeria* spp. 陽性です。
検体		陰性	検体は *Listeria* spp. 陰性です。
検体		阻害	検体マトリックスが反応を阻害しました。再検査が必要な場合があります。
検体		エラー	蛍光発光が検出されませんでした。再検査が必要な可能性があります。

*結果の詳細はランレポートを参照してください。必要に応じて、お近くのNeogen担当者に連絡してトラブルシューティングの支援を受けてください。

確認

この方法で取得された推定陽性結果に対して確認試験を行うことはできません。エンドユーザーは適切な清掃プロトコルを実施し、再検査を行うことができます。または、分離コロニーが必要な場合は、検査エリアを再度スワブで拭き取って、FDA BAM Ch. 10[7] または ISO 11290-1[8] に記載された培養手順に従って検査を行います。

参考文献

1.U.S. Food and Drug Administration.Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.

2.NF EN ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.

3.CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition.Effective Date:29 August 2025

4.ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions.International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org

5.ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3:Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory

6.Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.

7.Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 10:Detection of Listeria monocytogenes in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods (April 22)

8. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp.- Part 1:Detection method, https://www.iso.org/standard/60313.html

記号の説明

www.neogen.com/foodsafety/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
Auchincruive House
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 042604

产品说明书

Neogen® 分子检测分析 – *Listeria* Right Now™

产品说明和预期用途

Neogen 分子检测分析 – *Listeria* Right Now (MDALRN96) 试剂盒能够与 Neogen® 分子检测系统结合使用，可快速、特异性地检测来自明显清洁的清洁后/卫生和生产前环境表面的样品中的活性与失活*李斯特菌*属，无需进行富集分析。这款试剂盒使用随附的 Neogen Right Now™ 采样器，用采样溶液润湿，即可监测食物和饮料制造设施环境中的*李斯特菌*。本方法仅提供初步筛查结果，不应用于确证用途。

本检测法通过检测环境表面上的核糖体 RNA（rRNA），以指示存在目标微生物。由于在微生物失去活性后，rRNA 仍能存续，因此在传统依赖培养的方法无法分离到活细胞的情况下，本方法仍可能产生阳性结果；传统培养法仅能检测可存活细胞。该检测使用随附的 Neogen Right Now™ 采样拭子（预先润湿于采样溶液），用于监测食物和饮料制造设施环境中的*李斯特菌*。

该筛查试剂盒内含带有蓝色编码的冻干试剂珠的试剂管，用于检测*李斯特菌*属。

使用 Right Now 采样器采集样品后，裂解内容物以释放核酸。然后将核糖体 RNA 逆转录成互补 DNA (cDNA)。这种检测方法采用环介导的等温扩增 (LAMP) 进行快速、高度特异性和灵敏的核酸扩增，并对扩增的产品进行生物荧光检测。

Neogen 分子检测分析 – *Listeria* Right Now 专供经过实验室技术培训的专业人员在实验室环境中使用。Neogen 尚未记录该产品在食品或饮料以外的行业中的使用情况。例如，Neogen 没有记录该产品能否用于测试药品、化妆品、临床或兽医样本。Neogen 分子检测分析 – *Listeria* Right Now 尚未在所有可能的食品加工环境或所有可能的*李斯特菌*菌株中评估。Neogen 建议在用户环境中使用数量足够的样本来评估该方法能否应对特定环境挑战，以确保该方法符合用户标准。

在实施或验证该方法期间，可使用配对的 Neogen® Right Now™ 基质对照 (RNMC96) 在用户环境中展示分析稳定性。

Neogen® 分子检测仪器适用于在分析裂解步骤中经过热处理的样品，该步骤旨在裂解细胞并从位于样品中的生物体中释放核酸。在分析裂解步骤中未经适当热处理的样本可能被视为潜在的生物危害，不得将其插入 Neogen 分子检测仪器。

Neogen Food Safety 已通过 ISO（国际标准化组织）9001 设计和制造认证。

Neogen 分子检测分析 – *Listeria* Right Now 检测试剂盒包含足够进行 96 次检测的试剂，如表 1 所述。

表 1. 试剂盒组分

商品	性状	数量	内容物	备注
Right Now™ 采样器	带聚氨酯采样器的蓝色带盖试管	96 个采样器	用 1.5 mL 采样溶液浸润的采样器	即用型
Right Now™ 裂解试剂重悬缓冲液	透明塑料瓶	2 瓶（每瓶可重构两个裂解缓冲液试剂瓶）	重悬缓冲液	即用型
Right Now™ 裂解缓冲液	透明玻璃瓶	4 瓶（复溶，每瓶可填充 28 个裂解管）	裂解试剂	冻干
裂解 (LS) 管	透明连排式试剂管	96（12 条独立 8 联管）	空管	插在管架上，即用型
Listeria Right Now™ 试剂管	带有蓝色小球的透明管	96（3 个小袋，每袋包含 4 条 8 联管）	冻干特异性扩增和检测混合液	即用型
额外盖	透明管盖	96 只盖（12 联盖，每联盖 8 只盖）		即用型
Right Now™ 试剂对照 (RC)	透明翻盖管	16 管（2 袋，每袋 8 支单独管）	冻干对照核酸、扩增和检测混合物	即用型

安全性

用户应阅读、了解并遵循 Neogen 分子检测系统和 Neogen 分子检测分析 – *Listeria* Right Now 说明书中的所有安全信息。请留存安全说明以备将来参考。

警告：	表示危险情况，如果不避免，可能会导致死亡或重伤和/或财产损失。
警示：	表示危险情况，如果不避免，可能会导致轻伤或中伤和/或财产损失。

警告

请勿将 Neogen 分子检测分析 – *Listeria* Right Now™ 用于临床诊断人类或动物的李斯特菌病。

用户必须对其人员进行培训，确保其使用当前正确的测试技术，例如：《良好实验室规范》[1]、《ISO 7218:2024》[2] 或 CDC《微生物与生物医学实验室生物安全手册》 (BMBL)[3]。

Neogen 分子检测分析 - *Listeria* Right Now 不适用于对脏污表面进行采样或进行食品基质检测。

为降低因假阴性结果而导致使用受污染表面的相关风险：

- 遵循测试方案并严格按照产品说明书中的规定进行测试。
- 在执行方法期间，始终使用良好实验室规范转移样品和试剂。
- 按照包装上和产品说明书中所示储存 Neogen 分子检测分析 – *Listeria* Right Now。
- 始终在有效期之前使用 Neogen 分子检测分析 – *Listeria* Right Now。
- 始终使用试剂盒中包含的采样器。请勿使用来自其他来源的采样器。
- Right Now 采样器是一次性的。
- 试剂颗粒在水化开始后，请勿暂停。
- 强烈建议告知女性实验室工作人员，母亲暴露在*单核细胞增生李斯特菌*中会感染发育中的胎儿。

为了降低接触化学品和生物危害带来的风险：

- 请在训练有素的人员的控制下，在设备齐全的实验室中进行病原体检测。
- 用户必须在采样后清洁食品接触表面，以去除任何残留的拭子溶液。

在准备分析时，为了降低交叉污染带来的风险：

- 请务必佩戴手套（以保护用户并防止引入核酸酶）。

为了降低环境污染带来的风险：

- 遵守地方、区域和国家的处置规定。

警示

为了降低接触高温液体带来的风险：

- 请勿超过加热器上建议的温度设置。
- 请勿超过建议的加热时间。
- 使用适当的、经校准的温度计来验证 Neogen® 分子检测加热插块的温度（例如，部分浸入式温度计或数字热电偶温度计，而不是全浸入式温度计）。温度计必须放置在 Neogen 分子检测加热插块的指定位置。

在准备分析时，为了降低交叉污染带来的风险：

- 在进行试剂小球水化之前更换手套。
- 建议使用带气溶胶屏障（经过滤处理）的分子生物学级无菌移液器长吸头。
- 每次进行样品转移时，请使用新的移液器吸头。
- 将样品转移到裂解管时，请遵循良好实验室规范。为避免样品之间交叉污染，用户可以选择用蘸有 10% 漂白剂的湿巾清洁移液器轴，然后用干净的纸巾清洁移液器轴，或使用加长型移液器吸头。
- 在可能的情况下，请使用带有杀菌灯的分子生物学工作站。
- 定期使用 1–5%（v:v，水中稀释）的含氯家用漂白剂溶液或核酸去除剂，对实验台面及设备（移液器、开盖/闭盖工具、试剂管架等）进行去污处理。

为了降低假阳性结果带来的风险：

- 切勿在扩增反应结束后打开试剂管。
- 始终将受污染的试剂管浸泡于 1–5%（v:v，水中稀释）含氯家用漂白剂溶液（含次氯酸钠）中 1 小时，并确保处理地点远离检测准备区域。
- 请勿在扩增后对试剂管进行高压灭菌。

有关处置的附加信息及地方、州和国家法规，请参阅安全数据表。

如果您对特定应用或程序有疑问，请访问我们的网站（网址：neogen.com）或联系您当地的 Neogen 代表或经销商。

用户责任

用户负责熟悉产品说明书和信息。有关更多信息，请访问我们的网站 (neogen.com) 或联系当地的 Neogen 代表或经销商。

在选择检测方法时，重要的是要认识到采样方法、测试方案、样品制备、处理、实验室技术和样品本身等诸多外部因素都可能影响检测结果。

在选择任何测试方法或产品时，用户有责任对数量足够的样本进行评估，从而让用户确信所选的测试方法符合自己的标准，所用样本需具有适当的基质和微生物挑战。

用户也有责任确定任何测试方法和结果是否都符合客户和供应商的要求。

与任何测试方法一样，使用任何 Neogen Food Safety 产品获得的结果并不构成对所测试样本或工艺质量的保证。

为帮助客户在方法实施过程中评估其适用性，Neogen 开发了 Neogen® 分子检测-Right Now 基质对照试剂盒（在 ISO 24914:2026 中亦称为扩增对照[4]）。在验证和确认过程中，使用 Right Now 基质对照 (RNMC96) 评估基质对 Neogen 分子检测分析 - 李斯特菌 Right Now 检测结果的干扰情况。在方法性能验证及实验室应用范围界定时，应遵循 ISO 16140-3:2021 [5] 标准和/或所在机构的质量保证体系，以确定所需的代表性样本数量。方法验证完成且实验室应用范围确立之后，则无需在日常检测中常规使用 Right Now 基质对照。请遵循贵组织的质量保证计划，在日常检测中，根据情况逐案确定是否需要使用 Neogen Right Now 基质对照及其使用频率。

保证限制/有限补救措施

除个别产品包装的有限保证部分明确规定外，NEOGEN 否认所有明示和暗示保证，包括但不限于对适销性或特定用途适用性的任何保证。如果有任何 Neogen Food Safety 产品存在缺陷，Neogen 或其授权经销商将自行选择更换产品还是退还与产品的购买价格相等的费用。这些是您的专属补救措施。您必须在发现产品存在任何可疑缺陷后六十天内立即通知 Neogen，并将其退回给 Neogen。如有任何其他疑问，请联系您的 Neogen Food Safety 代表或 Neogen 授权经销商。

Neogen 责任限制

对于任何损失或损害，无论是直接损害、间接损害、特殊损害、附带损害还是后果性损害，包括但不限于利润损失，NEOGEN 概不负责。在任何情况下，Neogen 在任何法律理论下的责任均不得超过被指控有缺陷的产品的购买价格。

如需了解 Neogen 完整条款与条件，请访问： neogen.com/en/terms-and-conditions/

储存与处置

应将 Neogen® 分子检测分析 – *Listeria* Right Now 存储在 2–8°C 下。请勿冷冻贮藏。在储存期间，保持试剂盒远离光照。

打开试剂盒后，检查铝箔袋、塑料瓶和玻璃瓶是否完好无损。如果试剂盒内容物损坏，请勿使用。

打开后，未使用的试剂管应始终存放在可重复密封的袋子中，袋子内应装有干燥剂，以保持冻干试剂的稳定性。请将重新密封的袋子在 2–8°C 下储存，最长不超过 60 天。

使用后，重新盖上 Right Now™ 裂解试剂重悬缓冲液的盖子，直至盖紧。

复溶 Right Now™ 裂解缓冲液可在 2–8°C 下加盖储存长达 21 天。

如有必要，可以用 Parafilm® 进一步拧紧裂解缓冲液试剂的盖子。

请勿使用过期的 Neogen® 分子检测分析 – *Listeria* Right Now。有效期和批号标注在包装盒的外标签上。

检测完成后，应按照当地、区域及国家法规处置受污染废弃物。请参阅安全数据表以获取更多信息。

验证方法的具体说明

AOAC® *Performance Tested Methods℠* (PTM) 证书 #042604

该方法已获得 AOAC® *Performance Tested Methods℠* (PTM）认证。 在 AOAC 研究所 PTM℠ 项目中，Neogen 分子检测试剂盒-*Listeria* Right Now™ 被证明是一种有效的方法，用于检测不锈钢表面上（最大尺寸 4 × 4 英寸）的活性和非活性李斯特菌属。

使用说明

请仔细遵循所有说明。否则可能会导致结果不准确。

定期使用 1–5%（v:v，水中稀释）的含氯家用漂白剂溶液或核酸去除剂，对实验台面及设备（移液器、开盖/闭盖工具、试剂管架等）进行去污处理。

用户应完成 Neogen® 分子检测系统操作员资格 (OQ) 培训，具体要求详见《Neogen 分子检测系统安装确认 (IQ) / 操作确认 (OQ) 方案与说明书》[6]。

1. Right Now™ 采样器制备

1.1 用样品标识 (ID) 标记 Right Now 采样管。

1.2 轻弹 Right Now 采样管两次，让采样溶液沉到试管底部。

1.3 打开 Right Now 采样拭子试管，将采样拭子在试管壁上轻压，以去除多余的采样液。

1.4 在无菌条件下，将额外的采样溶液从试管中倒出。

1.5 将 Right Now 采样器放回空管中。

2. 样本采集

2.1. 通过在测试区域（1 × 1 英寸至 12 × 12 英寸，2.5 × 2.5 厘米至 30 × 30 厘米）上从水平、垂直及对角方向擦拭，对表面进行采样，以确保覆盖整个检测区域。将 Right Now 采样器翻转到另一侧，然后擦拭相同的采样表面。

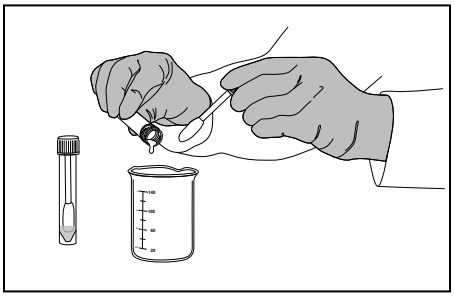
2.2. 将 Right Now 采样器放回空管中。

2.3. 如果不立即测试，请在 2–8°C 下储存采样器。检测前，Right Now 采样器可在 2–8°C 下放置长达 24 小时。样本保存不在 AOAC 验证的适用范围内。

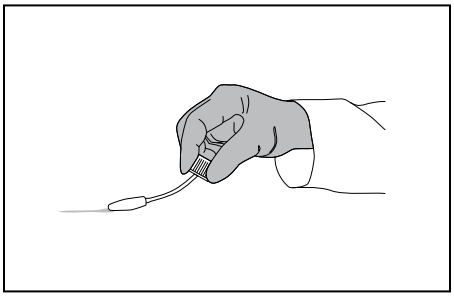
3. Right Now™ 裂解缓冲试剂（裂解酶）的制备

3.1. 用 28 mL Right Now™ 裂解试剂重悬缓冲液配制一瓶含有冻干裂解酶的 Right Now™ 裂解缓冲剂。轻轻旋转混合。使用前让裂解缓冲液升温至室温。

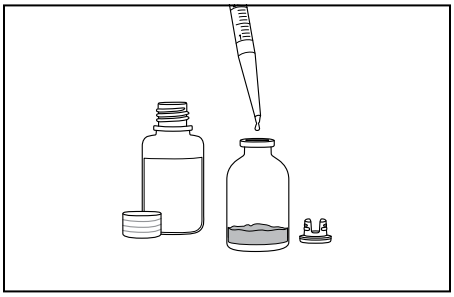
注：水化裂解缓冲液可在 2–8°C 下储存 21 天。在小瓶上写下制备裂解酶的日期。



在擦拭前，在无菌条件下倒出试管中多余的采样溶液。



通过水平、垂直和对角擦拭表面进行采样，以完全覆盖测试区域（1×1 英寸至 12×12 英寸）。将 Right Now 采样器翻转到另一侧，然后擦拭相同的采样表面。



用 28 mL 裂解试剂重悬缓冲液配制一瓶裂解缓冲液（冻干裂解酶）。轻轻旋转混合。使用前让裂解缓冲液升温至室温。

设备准备

4. 准备 Neogen® 分子检测快速装载托盘

4.1 用 1-5% (v:v 水溶液) 家用漂白溶液浸湿布或一次性毛巾，并且擦拭 Neogen 分子检测快速装载托盘。

4.2 用水冲洗 Neogen 分子检测快速装载托盘。

4.3 使用一次性毛巾将 Neogen 分子检测快速装载托盘擦干。

4.4 使用前，请确保 Neogen 分子检测快速装载托盘处于干燥状态。

本流程需使用两个 Neogen 加热/冷却模块插块，两个插块是相同的产品 (700000145)，但用途不同：

为了在流程中更清晰起见，用于加热步骤的插块称为分子检测热块插块，用于冷却步骤的插块则称为分子检测冷却块插块。这些名称仅为区分功能，并非不同产品。

5. 准备 Neogen® 分子检测冷却插块

5.1 将 Neogen 分子检测冷却插块直接放置在实验室工作台上。在实验室环境温度下使用该插块。

6. 准备 Neogen® 分子检测加热插块

6.1 将 Neogen 分子检测加热插块放入干燥的双插块加热器中。打开干燥的插块加热器并设置温度，使 Neogen 分子检测加热插块达到 100 ± 1°C 的温度并保持在该水平。

注：根据加热器的不同，Neogen 分子检测加热插块需要大约 30 分钟才能达到所需温度。请使用适当的温度计（例如，可使用部分浸入式温度计、数字热电偶温度计，勿使用全浸入式温度计）来验证 Neogen 分子检测加热插块的温度是否为 100 ± 1°C，验证时需对温度计进行预先校准并放置在指定位置。

7. 准备 Neogen® 分子检测仪器

7.1 启动 Neogen® 分子检测软件并登录。请联系您的 Neogen Food Safety 代表，确保您拥有该软件的最新版本。

7.2 打开 Neogen 分子检测仪器。

7.3 创建新运行或通过为每个样本选择一个孔来编辑运行。有关详细信息，请参阅 Neogen 分子检测系统用户手册。

7.4 对于 *Listeria* Right Now (LRN) 分析，选择 Neogen 分子检测软件上的 LRN 图标并将其分配给每个孔。

7.5 将 LRN NC 图标和 LRN RC 图标分别分配给运行中阴性对照和试剂对照的相应孔。

7.6. 为每次运行设置 LRN NC，并为试剂盒设置一个 LRN RC。

注：在插入带有反应管的 Neogen 分子检测快速装载托盘之前，Neogen 分子检测仪器必须达到并保持 60°C 的温度。大约需要 20 分钟才能完成该加热步骤，仪器状态栏上的橙色指示灯亮起时即表示处于加热状态。当仪器准备就绪可以开始运行时，状态栏将变为绿色。

8. *Listeria* Right Now™ 裂解检测

8.1 将 1 mL 在 3.1 中制备的 Right Now™ 裂解缓冲剂溶液转移至用于收集样本的 Right Now 采用器中（第 2 节）。避免接触 Right Now 采样管的侧面。更换每个样品的吸头，以防止裂解缓冲液受到污染。

注：使用后（1 小时内），将未使用的裂解缓冲液放回冰箱。

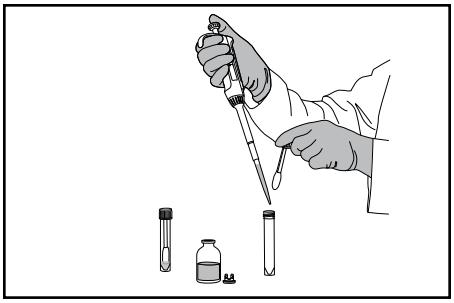
8.2 盖上试管盖。用涡旋混合器将 Right Now 采样管快速混合 5-10 秒，以挤出 Right Now 采样器中的样品。

8.3 将若干单个簇管放在空架子中。每个待测样本都需要一个空的簇管。始终额外加入一个空的连排式试剂管，用于阴性对照 (NC)。

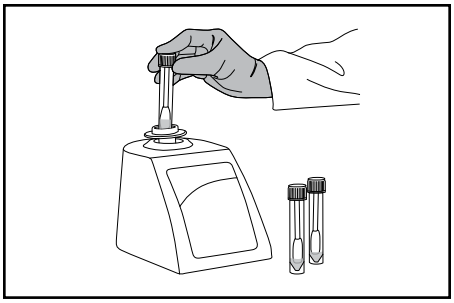
8.4 从 8.1 制备的试管中取出 Right Now 采样器，并将其放在工作台上的盖子上。避免触摸采样器以防止污染。

8.5 使用加长移液器吸头将 500 µL 样本从每个 Right Now 采样管转移到相应的空簇管中。将采样器放回试管中并盖紧盖子。

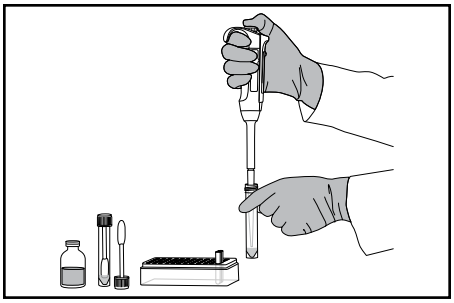
注：建议使用加长型移液器吸头（比标准移液器吸头长）。如果移液器轴接触到 Right Now 采样管，请弹出移液器吸头，然后用喷有 1–5% 漂白剂的毛巾彻底擦拭移液器轴，以防止样本之间的交叉接触污染。



将 1 mL Right Now™ 裂解缓冲剂溶液转移至用于采集样品的 Right Now™ 采样器中。避免接触采样管的侧面。



盖上试管盖。用涡旋混合器将采样管快速混合 5-10 秒，以挤出采样器中的样品。



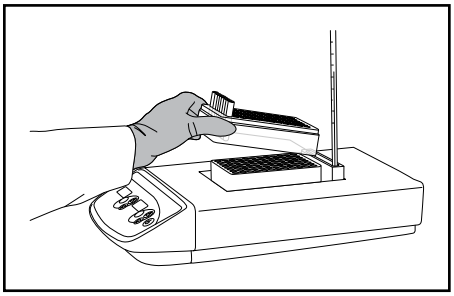
使用加长移液器吸头，将 500 µL 的每个样品从采样管转移到相应的空簇管中。

8.6 转移完所有样本后，将 500 µL 裂解缓冲液（在 3.1 中制备）转移到空的簇管中以制备 NC。请勿使用水作为 NC。

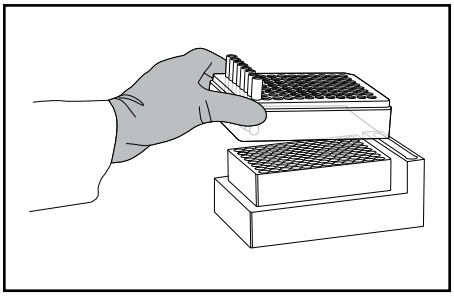
8.7 请验证 Neogen 分子检测加热插块的温度是否为 100 ± 1°C。

8.8 **加热步骤：**将未覆盖的簇状试管架放入 Neogen 分子检测加热块插件中，加热 10 ± 1 分钟。在加热过程中，裂解物可能会变得浑浊。

8.9 **冷却步骤：**从加热块上取出未盖住的簇管，并使其在 Neogen 分子检测冷却插块中冷却至少 5 分钟，最多 60 分钟。应将在环境温度下使用的 Neogen 分子检测冷却插块直接放在实验室工作台上。冷却后，裂解物应该是透明的。



将未盖住的簇管架放入 Neogen 分子检测加热插块中，并加热 10 ± 1 分钟。在加热过程中，裂解物可能会变得浑浊。



从加热块上取出未盖住的簇管，并使其在 Neogen 分子检测冷却插块中冷却至少 5 分钟，最多 60 分钟。

9. 扩增

9.1 每个样本和 NC 都需要一个 Neogen 分子检测分析 – *Listeria* Right Now 试剂管。

9.1.1 可以将试剂管条切割成所需的管数量。选择所需的单个试剂管数量或 8 联排管条。

9.1.2 避免搅起管底部的试剂颗粒。

9.2 取出一根 *Listeria* Right Now 试剂对照 (RC) 管并将其放入支架。

9.3 对于 LRN NC 裂解液，选择并在同一个试管架上放置一支 *Listeria* Right Now 试剂管。为避免交叉污染，请一次撕开一个联排管的盖子，并为每个转移步骤使用新的移液器吸头。

9.4 如下所述，将裂解物转移到 *Listeria* Right Now 试剂管中。

9.5 使用 Neogen® 分子检测加盖/去盖工具（试剂）去掉试剂管的盖子 — 一次一排联管。丢弃管盖。

9.5.1 从上半部分液体中将 50 µL 裂解物样本转移（避免沉淀）到 Neogen *Listeria* Right Now 试剂管中。以一定角度分液，以避免搅起颗粒。缓缓地上下吸 5 次，使其混合。

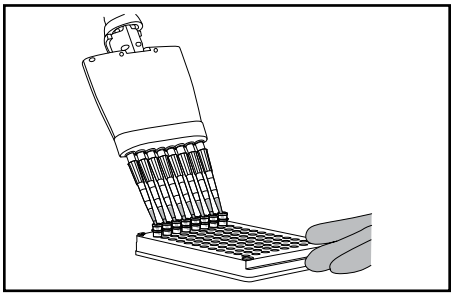
9.5.2 重复步骤 9.5.1，直到所有单独的裂解物样本都已添加到联排试剂管中。

9.5.3 用提供的额外盖子盖住试剂管，然后使用 Neogen 分子检测加盖/去盖工具（试剂）的圆形侧面以来回运动的方式施加压力，确保紧紧地压住管盖。

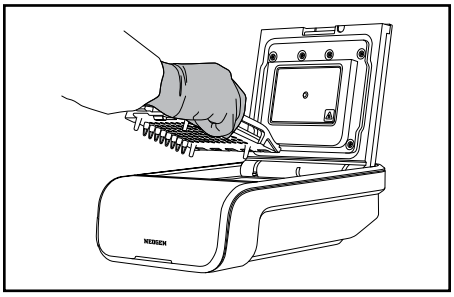
9.5.4 根据需要，重复步骤 9.5.1 至 9.5.3，以获得所需数量的待检测样本。

9.5.5 转移完所有裂解物样本后，将 50 µL NC 裂解物转移至一个 *Listeria* Right Now 试剂管中。轻轻上下吸 5 次，混合均匀。

9.5.6 最后，将 50 µL NC 裂解物转移到 Right Now™ 试剂对照 (RC) 管中。轻轻上下吸 5 次，混合均匀。



从簇管中上半部分液体中将 50 µL 裂解物样本转移到 LRN 试剂管中。以一定角度分液，以避免搅起颗粒。缓缓地上下吸 5 次，使其混合。



将加盖的试管装入清洁且已去污的 Neogen 分子检测快速装载托盘中。合上托盘并将其放入 Neogen MDS。合上盖子开始分析。

9.6 将加盖的试管装入清洁且已去污的 Neogen 分子检测快速装载托盘中。关闭并锁紧 Neogen 分子检测快速装载托盘盖。

9.7 在 Neogen 分子检测系统软件中审核并确认已配置的运行。

9.8 单击软件中的“开始”按钮，然后选择要使用的仪器。所选仪器的盖子会自动打开。

9.9 将 Neogen 分子检测快速装载托盘放入 Neogen 分子检测仪器，然后合上盖子开始分析。45 分钟内即可出具结果，不过检测到阳性所需的时间可能会更短。

9.10 在检测结束后，从 Neogen 分子检测仪中取出 Neogen 分子检测快速装载托盘（Speed Loader Tray），并将试管在 1–5% (v:v，水中稀释）含氯家用漂白剂溶液中浸泡 1 小时进行处置，且必须在远离检测准备区域的地点完成。

注：为了最大限度地降低因交叉污染而导致的假阳性风险，切勿打开含有扩增 DNA 的试剂管。始终将密封的试剂管在 1–5% (v:v，水中稀释）含氯家用漂白剂溶液中浸泡 1 小时进行处置，且必须在远离检测准备区域的地点完成。

结果与解读

算法根据核酸扩增产生的光输出曲线来判读结果。结果由软件自动分析，并根据结果的不同对其进行颜色编码。对多个具有唯一性的曲线参数进行分析，即可确定结果是阳性还是阴性。阳性结果可实时报告，而阴性结果则在运行完成后显示。

注：由于系统和 Neogen 分子检测分析 – *Listeria* Right Now 扩增试剂具有“背景”相对光单位 (RLU) 读数，因此即使是阴性样本，读数也不会为零。

表 2：Neogen 分析检测系统软件提供的样本和解析的结果符号。

孔类型	孔结果符号	结果	解读
样品		阳性	样本中*李斯特菌*属呈阳性。
样品		阴性	样本中*李斯特菌*属呈阴性。
样品		受抑制*	样品基质对检测产生了抑制作用。可能需要进行再测试。
样品		错误*	未检测到生物发光。可能需要进行再测试。

*有关结果的更多详细信息，请参阅运行报告。如果需要，请联系您当地的 Neogen 代表，寻求故障排除协助。

确证

使用本方法获得的推定阳性结果无法进行确证。最终用户可实施适当的清洁程序并重新检测。或者，如需分离菌落，可重新对检测区进行拭子采样，并按照 FDA BAM Ch.10[7] 或 ISO 11290-1[8] 中所述的培养程序，开展检测。

参考文献

1.U.S. Food and Drug Administration.Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.

2.NF EN ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.

3.CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition.Effective Date:29 August 2025

4.ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions.International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org

5.ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3:Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory

6.Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.

7.Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 10:Detection of Listeria monocytogenes in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods (April 22)

8. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp.- Part 1:Detection method, https://www.iso.org/standard/60313.html

符号解释

www.neogen.com/foodsafety/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
Auchincruive House
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

產品操作說明

Neogen® 分子檢測系統 - *Listeria* Right Now™

產品說明和預期用途

Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now (MDALRN96) 套組會搭配 Neogen® 分子檢測系統使用，可快速且特異性地檢測目視乾淨之清潔後/消毒後及生產前環境表面檢體中的具活性與不具活性*李斯特菌*屬無需富集。它使用內含的 Neogen Right Now 採樣棒，配合採樣溶液，用於監測食品和飲料製造設施環境中的*李斯特菌*。 本方法僅提供推定結果，不可用於確認結果。

本檢測法能檢測環境表面上的核糖體 RNA (rRNA)，來判斷目標微生物是否存在。由於 rRNA 在微生物失去活性後仍可持續存在，因此在傳統培養法 (僅能檢測活細菌) 無法分離出微生物的情況下，本方法仍可能產生陽性結果。本檢測法使用內含以採樣溶液沾濕的 Neogen Right Now™ 採樣棒，用於監測食品和飲料製造設施環境中的*李斯特菌*。

篩檢套組包含帶有藍色標記之凍乾試劑小球的試劑小管，用於檢測*李斯特菌*屬。

使用 Right Now 採樣棒採集樣本後，樣本內容物會進行裂解以釋放核酸。接著將核糖體 RNA 反轉錄為互補 DNA (cDNA)。此檢測採用恆溫環狀擴增技術 (LAMP)，可快速、高度特異性且靈敏地進行核酸擴增，並以生物發光方式檢測擴增產物。

Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now 設計用於實驗室環境，提供受過實驗室技術訓練的專業人員使用。Neogen 尚未記錄此產品在食品或飲料以外產業的應用。例如，Neogen 尚未記錄此產品在藥品、化妝品、臨床或獸醫樣本的測試。Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now 尚未評估所有可能的食品加工環境或所有可能的*李斯特菌*菌株。Neogen 建議使用者在其環境中評估此方法，使用足夠數量的樣本來應對特定環境挑戰，以確保該方法符合使用者的標準。

在實施方法或方法驗證期間，請使用配套的 Neogen® Right Now™ 基質對照組 (RNMC96) 來驗證檢測方法在使用者環境中的穩健性。

Neogen® 分子檢測儀器設計用於在檢測裂解步驟中經過熱處理的樣本，該步驟旨在裂解細胞並從樣本中的微生物釋放核酸。在檢測裂解步驟中未經適當熱處理的樣本可能構成潛在的生物危害，不應置入 Neogen 分子檢測儀器中。

Neogen食品安全公司已通過 ISO (國際標準化組織) 9001 認證，涵蓋產品設計與製造領域。

Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now 檢測套組包含足夠進行 96 次檢測的試劑，如表 1 所示。

表 1. 套組內容物

項目	識別	數量	內容物	備註
Right Now™ 採樣棒	藍蓋試管附聚氨酯採樣棒	96 個採樣棒	採樣棒預濕 1.5 mL 採樣溶液	即可使用
Right Now™ 裂解試劑重懸緩衝液	透明塑膠瓶	2 瓶 (每瓶可配製 2 瓶裂解緩衝試劑)	重懸緩衝液	即可使用
Right Now™ 裂解緩衝試劑	透明玻璃瓶	4 瓶 (復溶後，每瓶可充填 28 支裂解小管)	裂解試劑	凍乾
裂解 (LS) 小管	透明集液管	96 支 (12 條，每條 8 管)	空的	已架設好，即可使用
Listeria Right Now™ 試劑小管	透明小管含藍色顆粒	96支 (3 包，每包含 4 條，每條含 8 支小管)	凍乾的特異性擴增和檢測混合物	即可使用
備用蓋子	透明蓋子	96 個 (含12 條，每條含 8 個蓋子)		即可使用
Right Now™ 試劑對照組 (RC)	透明翻蓋小管	16 支 (含 2 包，每包含 8 支單管)	凍乾的對照核酸、擴增和檢測混合物	即可使用

安全

使用者應詳閱、理解並遵循 Neogen 分子檢測系統及 Neogen 分子檢測分析— *Listeria* Right Now 套組說明書中所有安全資訊。請保留安全說明以供日後參考。

⚠ **警告：**	表示危險情況，如果未能避免，可能導致死亡或嚴重傷害和/或財產損失。
⚠ **注意：**	表示危險情況，如果未能避免，可能導致輕微或中度傷害和/或財產損失。

⚠ **警告**

請勿使用 Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now™ 進行臨床診斷人類或動物的李斯特菌症。

使用者必須對相關人員進行當前正確檢測技術的訓練，例如： 優良實驗室操作規範[1]、ISO 7218:2024[2]，或美國疾病管制與預防中心 (CDC) 微生物學與生物醫學實驗室生物安全手冊 (BMBL)[3]。

Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now 套組不適用於採樣受汙染表面或食品基質測試。

為降低偽陰性結果而使用到受污染表面之風險:

- 請依照產品說明中所述的流程執行檢測。
- 在執行方法期間，轉移樣品與試劑時務必遵循優良實驗室操作規範。
- 依照包裝和產品說明所示儲存 Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now套組。
- 務必在有效期限內使用 Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now套組。
- 務必使用套組內含的採樣棒，不要使用其他來源的採樣棒。
- Right Now 採樣棒為單次使用。
- 試劑小球開始復水後請勿中斷操作。
- 強烈建議告知女性實驗室人員，若母親因接觸*單核細胞*增多性*李斯特菌*而感染，可能對胎兒發育造成風險。

為降低與化學品和生物危害物接觸相關的風險：

- 在設備完善的實驗室中，由受過訓練的人員進行病原菌測試。
- 使用者必須在採樣後清潔食品接觸表面，以去除任何殘留的採樣溶液。

為降低準備檢測時交叉污染相關的風險：

- 務必戴手套 (保護使用者並防止核酸酶的汙染)。

為降低環境污染相關的風險：

- 請遵守地方、區域及國家法規的廢棄物處理規定。

注意

為降低接觸高溫液體相關的風險：

- 請勿超過加熱器上的建議溫度設定值。
- 請勿超過建議的加熱時間。
- 使用適當且經校準的溫度計來驗證 Neogen® 分子檢測加熱塊的溫度 (例如，使用部份浸入式溫度計或數位熱電偶溫度計，不可使用全浸入式溫度計)。溫度計必須放置在 Neogen 分子檢測加熱塊的指定位置。

為降低準備檢測時交叉污染相關的風險：

- 在試劑小球復水前更換手套。
- 建議使用長尖頭、無菌、氣溶膠屏障 (過濾)、分子生物學等級的吸管尖。
- 每次轉移樣本時使用新的吸管尖。
- 請遵循優良實驗室操作規範轉移樣本至裂解小管。為避免樣本間的交叉污染，使用者可選擇用含 10% 漂白水的擦拭布清潔移液器，然後用乾淨的紙巾擦拭，或使用加長型吸管尖。
- 如有可能，請使用配備殺菌燈的分子生物學工作台。定期使用 1–5% (v:v 水溶液) 家用漂白水溶液或 RNA 去除溶液對實驗室工作台和設備 (移液器、開關蓋工具等) 進行清潔。
- 定期使用 1–5% (v:v 水溶液) 含氯 家用漂白水溶液或核酸去除溶液對實驗室工作台和設備 (移液器、開關蓋工具、試劑小管架等) 進行清潔。

為降低偽陽性結果相關的風險：

- 切勿開啟擴增後的試劑小管。
- 務必將受污染的試劑管浸泡在 1–5% (v:v 水溶液)含氯 家用漂白水溶液 (含次氯酸鈉) 中 1 小時後棄置，且應遠離檢測準備區。
- 請勿對擴增後的試劑小管進行高壓滅菌。

請參閱安全資料表以獲取額外資訊以及當地、州和國家的處置法規。

如果您對特定應用或流程有疑問，請瀏覽我們的網站 neogen.com 或聯繫您當地的 Neogen 代表或經銷商。

使用者責任

使用者有責任熟悉產品說明和資訊。欲了解更多資訊，請瀏覽我們的網站 neogen.com，或聯繫您當地的 Neogen 代表或經銷商。

選擇測試方法時，必須認知到採樣方法、測試流程、樣品製備、操作處理、實驗室技術和樣品本身等外部因素皆可能影響測試結果。

使用者有責任在選擇任何測試方法或產品時，評估足夠數量的樣本，並採用適當的基質與微生物挑戰，以確保所選擇的測試方法符合使用者的標準。

使用者也有責任確認任何測試方法與結果符合其客戶和供應商的要求。

如同任何測試方法，使用任何 Neogen 食品安全產品所得到的結果並不能保證受測樣品或流程的品質。

為了協助客戶在導入過程中評估本方法的適用性，Neogen 開發了 Neogen® 分子檢測 - Right Now Matrix Control 套組 (在ISO 24914:2026[4] 亦稱為擴增控制組)。在驗證與確效期間，請使用 Right Now Matrix Control (RNMC96) 評估基質干擾對於 Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now 檢測結果的影響。遵循 ISO 16140-3:2021[5] 標準及/或貴單位的品質保證計畫，以決定驗證方法效能及定義其在實驗室應用範圍時所需的代表性樣品數量。一旦方法驗證完成且實驗室應用範圍確立後，即無需於例行檢測中持續使用 Right Now Matrix Control。請依據貴單位的品質保證計畫，視個別情況決定是否需要使用 Neogen Right Now Matrix Control 套組及其在例行檢測中的使用頻率。

保證之限制/ 有限補救措施

除各別產品包裝的有限保固條款明確載明者外，NEOGEN 概不承擔任何明示和暗示的保證，包括但不限於對商品適售性或特定用途適用性之任何保證。如果任何 Neogen 食品安全產品存在瑕疵，Neogen 或其授權經銷商將自行決定選擇更換產品或退還產品購買價格。這些是您僅有的補償措施。您必須在發現任何疑似產品瑕疵後六十天內立即通知 Neogen 並將產品退回 Neogen。如有任何進一步問題，請聯繫您的 Neogen 食品安全代表或授權 Neogen 經銷商。

Neogen 責任限制

NEOGEN 概不承擔任何損失或損害之責任，無論該等損失或損害屬直接、間接、特殊、附帶或衍生損害，包括但不限於利潤損失。無論基於任何法律理論，Neogen 的責任在任何情況下均不得超過據稱存在瑕疵之產品的購買價格。

如需了解 Neogen 完整條款與條件，請訪問：neogen.com/en/terms-and-conditions/

儲存和棄置

將 Neogen® 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now 套組儲存於 2–8°C。請勿冷凍。儲存時需避光。

開啟套組後，檢查鋁箔袋、塑膠和玻璃瓶是否完好。如果套組內容物損壞，請勿使用。

開封後，未使用的試劑小管應始終儲存在可重複密封的袋中，並保留袋內的乾燥劑以維持凍乾試劑的穩定性。請將重新密封的袋子置於 2–8°C 儲存，不超過 60 天。

使用後，重新蓋緊 Right Now™ 裂解試劑重懸緩衝液蓋子。

復溶的 Right Now™ 裂解緩衝試劑可在 2–8°C 密封儲存最多 21 天。

如有必要，可使用 Parafilm® 進一步密封裂解緩衝試劑的蓋子。

請勿使用過期的 Neogen® 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now套組。有效期限和批號標註在外盒標籤上。

完成測試後，請遵循地方、區域及國家法規處置受污染的廢棄物。請參閱安全資料表以獲取額外資訊。

具體的驗證方法說明

AOAC® *Performance Tested Methods*℠ (PTM) 證書 #042604

本方法已獲得 AOAC® *Performance Tested Methods*℠ (PTM) 驗證。在 AOAC 研究所 PTM℠ 項目中，Neogen 分子檢測分析-*Listeria* Right Now™ 被證明是一種有效的方法，用於檢測不鏽鋼表面上（最大尺寸 4 × 4 吋）的具活性與不具活性*李斯特菌*屬。

使用說明

請仔細遵循所有說明。未能遵循可能導致不準確的結果。

定期使用 1–5% (v:v 水溶液) 含氯家用漂白水溶液或核酸去除溶液對實驗室工作台和設備 (移液器、開關蓋工具、試劑小管架等) 進行清潔。

使用者應完成 Neogen® 分子檢測系統操作人員資格 (OQ) 訓練，如「Neogen 分子檢測系統安裝驗證 (IQ) / 操作驗證 (OQ) 流程和說明」文件 [6] 所述。

1. Right Now™ 採樣棒的準備

1.1 在 Right Now 採樣棒管壁上標示樣本名稱 (ID)。

1.2 輕彈 Right Now 採樣棒管壁兩次，使採樣溶液流至管底。

1.3 打開 Right Now 採樣管，將採樣棒頭於管壁上按壓，以去除多餘的採樣溶液。

1.4 在無菌操作下，將多餘的採樣溶液從試管中倒出。

1.5 將 Right Now 採樣棒放回空管中。

2. 樣本採集

2.1. 進行水平、垂直及對角線方向塗抹採樣，以完整覆蓋測試區域 (1 × 1 吋至 12 × 12 吋，即 2.5 × 2.5 公分至 30 × 30 公分)。將 Right Now 採樣棒翻轉至另一面，並再次塗抹相同的採樣表面。

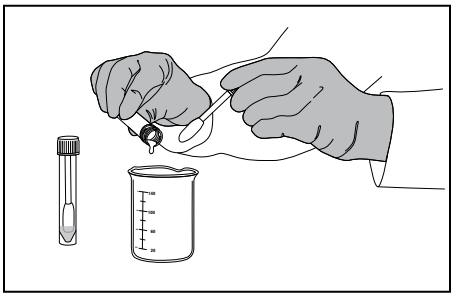
2.2. 將 Right Now 採樣棒放回空管中。

2.3. 如果未立即檢測，請將採樣棒儲存於 2–8°C。Right Now 採樣棒樣本最多可在 2–8°C 保存 24 小時再進行檢測。AOAC 驗證作業不包括樣品保存。

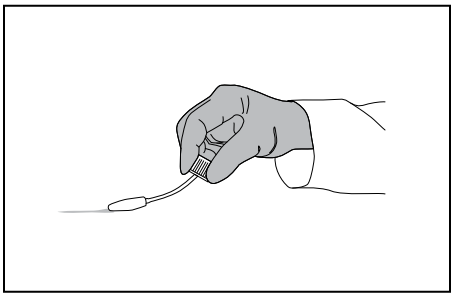
3. Right Now™ 裂解緩衝試劑 (裂解) 的準備

3.1. 用 28 mL 的 Right Now™ 裂解試劑重懸緩衝液回溶一瓶含有凍乾裂解的 Right Now 裂解緩衝試劑。輕輕旋轉混合。使用前讓裂解緩衝液回溫至室溫。

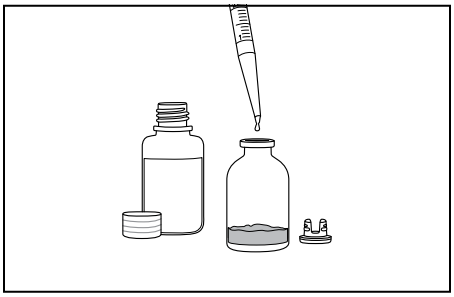
註：復水後的裂解緩衝液可在 2–8°C 儲存 21 天。請在製備溶解酶的小瓶上標註日期。



在採樣前，於無菌操作下，將多餘的採樣溶液從試管中倒出。



採樣時，以水平、垂直和對角方向塗抹表面，以完整覆蓋測試區域 (1×1 英吋至 12×12 英吋)。將 Right Now 採樣棒翻轉至另一面，並再次塗抹相同的採樣表面。



用 28 mL 的裂解試劑重懸緩衝液回溶一瓶裂解緩衝試劑 (凍乾的裂解酶)。輕輕旋轉混合。使用前讓裂解緩衝液回溫至室溫。

設備的準備

4. Neogen® 分子檢測快速裝載托盤的準備

4.1 用浸潤 1–5% (v:v 水溶液) 家用漂白水溶液的布或拋棄式紙巾擦拭 Neogen 分子檢測快速裝載托盤。

4.2 用水潤洗 Neogen 分子檢測快速裝載托盤。

4.3 用拋棄式紙巾擦乾 Neogen 分子檢測快速裝載托盤。

4.4 使用前確保 Neogen 分子檢測快速裝載托盤處於乾燥狀態。

本程序需要兩個 Neogen 分子檢測加熱塊/冷卻塊插入模組。兩種插入模組都屬於同一款產品 (700000145)，但用途不同。

為使操作步驟的說明更清晰，加熱步驟所使用的加熱塊將稱為「分子檢測加熱塊」，而冷卻步驟所使用的冷卻塊將稱為「分子檢測冷卻塊」。這些名稱僅用來區分其功能角色，而不是指不同產品。

5. Neogen® 分子檢測冷卻塊的準備

5.1 將 Neogen 分子檢測冷卻塊直接放在實驗室工作台上。在實驗室環境溫度下使用該冷卻塊。

6. Neogen® 分子檢測加熱塊的準備

6.1 將 Neogen 分子檢測加熱塊放入乾式加熱器中。開啟乾式加熱器並設定溫度，使 Neogen 分子檢測加熱塊達到並維持 100 ± 1°C。

註：根據加熱器型號，Neogen 分子檢測加熱塊約需 30 分鐘達到設定溫度。使用適當且經校準的溫度計 (例如，部份浸入式溫度計、數位熱電偶溫度計，不可使用全浸入式溫度計) 放置在指定位置，確認 Neogen 分子檢測加熱塊溫度為 100 ± 1°C。

7. Neogen® 分子檢測儀器的準備

7.1 開啟 Neogen® 分子檢測軟體並登入。聯繫您的 Neogen 食品安全代表以確保您使用最新版本的軟體。

7.2 啟動 Neogen 分子檢測儀器。

7.3 建立新檢測或編輯檢測，為每個樣本選擇孔位。詳情請參閱 Neogen 分子檢測系統使用手冊。

7.4 對於 *Listeria* Right Now (LRN) 檢測，在 Neogen 分子檢測軟體中選擇 LRN 圖示並將其分配至每個孔位。

7.5 將 LRN NC 圖示與 LRN RC 圖示分別指派至該運行中對應的陰性對照孔與試劑對照孔。

7.6. 每次檢測需設置一個 LRN NC，且每盒套組需設置一個 LRN RC。

註：在放入裝有反應試劑的 Neogen 分子檢測快速裝載托盤前，Neogen 分子檢測儀器必須達到並維持 60°C。此加熱步驟約需 20 分鐘，儀器狀態列會顯示橘色指示燈。當儀器準備好開始檢測時，狀態列會變為綠色。

8. *Listeria* Right Now™ 檢測的裂解步驟

8.1 將 1 mL 在 3.1 中準備的 Right Now™ 裂解緩衝試劑溶液轉移到用於收集樣本的 Right Now 採樣棒中 (參見第 2 節)。避免觸碰 Right Now 採樣棒管壁。每次取樣後更換吸管尖，以防止裂解緩衝液受到污染。

註：使用後將未使用的裂解緩衝液放回冰箱 (1 小時內)。

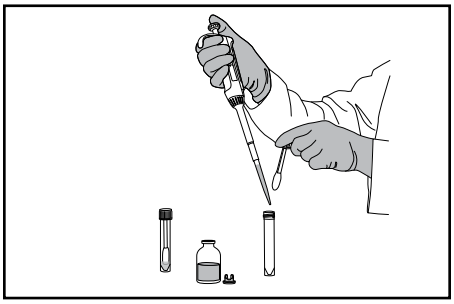
8.2 蓋緊管蓋。用漩渦混合器劇烈混合 Right Now 採樣棒試管 5–10 秒，以釋出 Right Now 採樣棒中的檢體。

8.3 在空架中放置所需數量的空集液管。每個待測樣本需要一個空集液管。請務必另外加入一支空的集液管作為陰性對照組 （NC)。

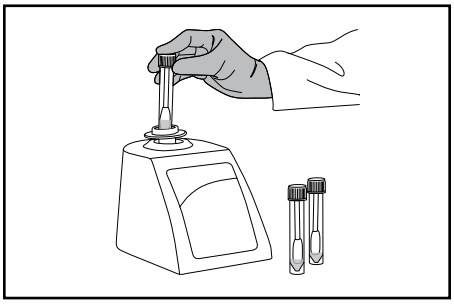
8.4 從 8.1 中準備的管中取出 Right Now 採樣棒，使其蓋子朝下立於工作台上。避免觸碰採樣棒以防止污染。

8.5 使用加長型吸管尖，將每個 Right Now 採樣棒管中的 500 µL 轉移到相應的空集液管中。將採樣棒放回原本的管子並蓋緊蓋子。

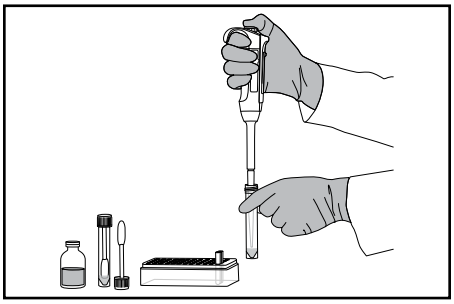
註：建議使用加長型吸管尖 (比標準吸管尖更長)。如果移液器 (pipette) 接觸到 Right Now 採樣棒管，請剔除吸管尖，然後用已噴灑 1–5% 漂白水的紙巾徹底擦拭移液器，以防止樣本間的交叉接觸污染。



將 1 mL Right Now™ 裂解緩衝試劑溶液轉移到用於收集樣本的 Right Now™ 採樣棒中。避免觸碰採樣棒管壁。



蓋緊管蓋。用漩渦混合器劇烈混合採樣棒試管 5–10 秒，以釋出採樣棒中的檢體。



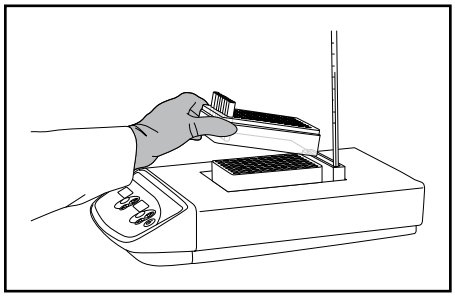
使用加長型吸管尖，將每個採樣棒管中的 500 µL 轉移到相應的空集液管中。

8.6 轉移所有樣本後，將 500 µL 裂解緩衝液 (在 3.1 中準備) 轉移至空集液管中以製備 NC。不要使用水作為 NC。

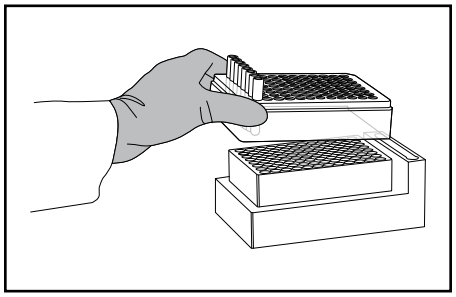
8.7 確認 Neogen 分子檢測加熱塊的溫度為 100 ± 1°C。

8.8 **加熱步驟：** 將未加蓋的集液管架放入 Neogen 分子檢測加熱塊中加熱 10 ± 1 分鐘。加熱過程中，裂解液可能變渾濁。

8.9 **冷卻步驟：**從加熱塊上取下未蓋蓋子的集液管架，放入 Neogen 分子檢測冷卻塊中冷卻至少 5 分鐘，最多不超過 60 分鐘。Neogen 分子冷卻塊應置於實驗室工作台上，於室溫下使用。冷卻後，裂解液應變得清澈。



將未加蓋的集液管架放入 Neogen 分子檢測加熱塊中加熱 10 ± 1 分鐘。加熱過程中，裂解液可能變渾濁。



從加熱塊上取下未蓋蓋子的集液管架，放入 Neogen 分子檢測冷卻塊中冷卻至少 5 分鐘，最多不超過 60 分鐘。

9. 擴增

9.1 每個樣本和 NC 各需要一個 Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now 試劑小管。

9.1.1 試劑管條可依所需管數進行裁切。請選擇所需的單支試劑小管數量或 8 管條組。

9.1.2 避免攪動管底的試劑小球。

9.2 取出一個 *Listeria* Right Now 試劑對照 (RC) 小管並放入架中。

9.3 針對 LRN NC 裂解液，於同一管架中選擇並放置一支 *Listeria* Right Now 試劑小管。為避免交叉污染，一次只開啟一條試劑管條的蓋子，且每次移液皆使用新的吸管尖。

9.4 按以下步驟將裂解液轉移到 *Listeria* Right Now 試劑小管中：

9.5 使用 Neogen® 分子檢測試劑小管開關蓋工具，一次開啟一條試劑管條的蓋子。丟棄蓋子。

9.5.1 從集液管中液體上半部分 (避開沉澱) 轉移 50 µL 樣本裂解液到 Neogen *Listeria* Right Now 試劑小管中。以傾斜角度分注以避免擾動小球。輕輕上下吸放 5 次進行混合。

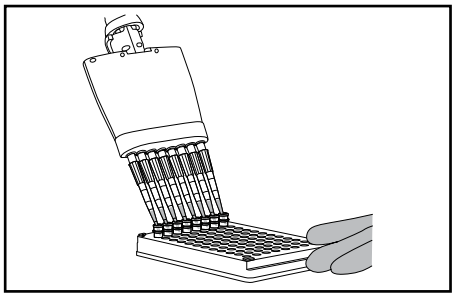
9.5.2 重複步驟 9.5.1 直到所有單個樣本裂解液都加入試劑管條中的試劑小管。

9.5.3 用額外提供的蓋子蓋住試劑小管，使用 Neogen 分子檢測試劑小管開關蓋工具的圓弧端來回施壓，確保蓋子緊密蓋合。

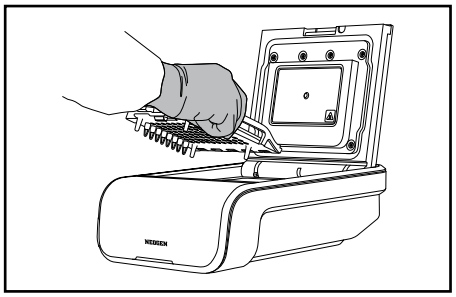
9.5.4 根據待測樣本數量需要，重複步驟 9.5.1 至 9.5.3。

9.5.5 轉移完所有樣本裂解液後，將 50 µL NC 裂解液轉移到一個 *Listeria* Right Now 試劑小管中。輕輕上下吸放 5 次進行混合。

9.5.6 最後，將 50 µL NC 裂解液轉移到一個 Right Now™ 試劑對照 (RC) 小管中。輕輕上下吸放 5 次進行混合。



從集液管上半部分轉移 50 µL 樣本裂解液到 LRN 試劑小管中。以傾斜角度分注以避免攪動顆粒。輕輕上下吸放 5 次進行混合。



將已封蓋的小管置入清潔且已去污的 Neogen 分子檢測快速裝載托盤中。闔上並置入 Neogen MDS。蓋上儀器蓋子以開始檢測。

9.6 將已封蓋的小管置入清潔且已去污的 Neogen 分子檢測快速裝載托盤中。關閉並扣緊 Neogen 分子檢測快速裝載托盤蓋。

9.7 檢查並確認 Neogen 分子檢測系統軟體中設定的檢測。

9.8 按一下軟體中的開始按鈕並選擇要使用的儀器。所選儀器的蓋子會自動開啟。

9.9 將 Neogen 分子檢測快速裝載托盤放入 Neogen 分子檢測儀器中並關閉蓋子以開始檢測。結果將在 45 分鐘內提供，而陽性結果可能更早被偵測到。

9.10 檢測完成後，從 Neogen 分子檢測儀中取出 Neogen 分子檢測快速裝載托盤，將試劑小管浸泡在 1–5% (v:v 水溶液) 家用漂白水溶液中一小時後棄置，且應遠離檢測準備區。

註：為降低因交叉污染導致偽陽性的風險，切勿打開含有擴增 DNA 的試劑小管。務必將密封的試劑小管浸泡在 1–5% (v:v 水溶液) 含氯 家用漂白水溶液中 1 小時後棄置，且應遠離檢測準備區。

結果與判讀

演算法會解讀核酸擴增偵測所產生的發光曲線。結果由軟體自動分析並根據結果以顏色編碼標示。陽性或陰性結果是透過分析多個獨特的曲線參數來判定。陽性結果會即時回報，而陰性結果則將在檢測完成後顯示。

註：即使是陰性樣本也不會顯示零讀數，因為系統和 Neogen 分子檢測分析 – *Listeria* Right Now 擴增試劑具有「背景」相對光單位 (RLU) 讀數。

表 2：Neogen 分子檢測系統軟體提供的樣本結果符號及判讀。

孔位類型	孔位結果符號	結果	判讀
樣本		陽性	樣本對*李斯特菌*屬呈陽性
樣本		陰性	樣本對*李斯特菌*屬呈陰性
樣本		受抑制*	樣本基質對分析造成抑制。可能需要重新檢測。
樣本		錯誤*	未檢測到生物發光。可能需要重新檢測。

* 請參閱執行報告以獲取結果的詳細資訊。如有需要，請聯絡當地的 Neogen 代表以獲得疑難排解協助。

確認

以本方法獲得的推定陽性結果無法進行確認。最終使用者可執行適當的清潔程序並重新進行檢測。或若需要分離菌落，請重新塗抹採樣區域，並依照 FDA BAM 10(7) 或 ISO 11290-1[8] 相關章節所述之培養流程進行檢測。

參考文獻

1.U.S. Food and Drug Administration.Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.

2.NF EN ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.

3.CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition.Effective Date:29 August 2025

4.ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions.International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org

5.ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3:Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory

6.Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.

7.Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 10:Detection of Listeria monocytogenes in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods (April 22)

8. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp.- Part 1:Detection method, https://www.iso.org/standard/60313.html

符號說明

www.neogen.com/foodsafety/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
Auchincruive House
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 042604

คำแนะนำผลิตภัณฑ์

ชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen® – *Listeria* Right Now™

คำอธิบายผลิตภัณฑ์และวัตถุประสงค์การใช้งาน

ชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen – *Listeria* Right Now (MDALRN96) ใช้กับระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen® เพื่อการตรวจหาเชื้อ Listeria spp *ทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต* ได้อย่างรวดเร็วและเฉพาะเจาะจง อย่างรวดเร็วและจำเพาะเจาะจงจากตัวอย่างพื้นผิวสิ่งแวดล้อมที่ปราศจากสิ่งปนเปื้อนหลังกระบวนการทำความสะอาด/ฆ่าเชื้อและก่อนกระบวนการผลิต โดยไม่จำเป็นต้องทำการเพิ่มปริมาณเชื้อก่อน อุปกรณ์นี้ใช้ชุดเก็บตัวอย่าง Neogen Right Now™ Sampler ที่มาพร้อมในชุด ซึ่งได้ทำการทำให้เปียกด้วยสารละลายสำหรับเก็บตัวอย่างแล้ว เพื่อใช้ในการตรวจติดตามหาเชื้อ *Listeria* ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมภายในสถานที่ผลิตอาหารและเครื่องดื่ม วิธีนี้ให้ผลตรวจโดยสันนิษฐานเท่านั้นและไม่ได้มีไว้เพื่อการยืนยันผล

การทดสอบนี้เป็นการตรวจหาไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (rRNA) บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมเพื่อเป็นตัวบ่งชี้ถึงการมีอยู่ของจุลินทรีย์เป้าหมาย เนื่องจาก rRNA ยังคงเหลืออยู่ได้แม้ว่าเชื้อจะไม่มีชีวิตอยู่แล้ว วิธีการนี้อาจให้ผลเป็นบวกในสถานการณ์ไม่สามารถตรวจหาเชื้อได้ด้วยวิธีเพาะเชื้อแบบดั้งเดิม ซึ่งจะตรวจหาได้เฉพาะเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่เท่านั้น การทดสอบนี้ใช้ชุดเก็บตัวอย่าง Neogen Right Now™ Sampler ที่มาพร้อมในชุด ซึ่งได้ทำการทำให้เปียกด้วยสารละลายสำหรับเก็บตัวอย่างแล้ว เพื่อใช้ในการตรวจติดตามหาเชื้อ *Listeria* ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมภายในสถานที่ผลิตอาหารและเครื่องดื่ม

ชุดคัดกรองประกอบด้วยหลอดรีเอเจนต์ที่มีเม็ดสารทำแห้งแบบแช่แข็งสีน้ำเงินสำหรับตรวจหาสายพันธุ์เชื้อ *Listeria*

หลังการเก็บตัวอย่างด้วย Right Now Sampler แล้ว จะเกิดการย่อยเซลล์ และปล่อยกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ออกมา จากนั้นอาร์เอ็นเอจะถูกถอดรหัสย้อนกลับไปเป็นดีเอ็นเอสายคู่สม (cDNA) การทดสอบนี้ใช้เทคนิคการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแบบไอโซเทอร์มอลด้วยลูป (LAMP) ซึ่งเป็นวิธีการที่รวดเร็ว จำเพาะเจาะจง และมีความไวสูงในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม พร้อมทั้งตรวจจับผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มปริมาณแล้วด้วยการเรืองแสงทางชีวภาพ

ชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุล – *Listeria* Right Now มีวัตถุประสงค์สำหรับใช้ในสภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการโดยผู้เชี่ยวชาญที่ผ่านการฝึกอบรมเทคนิคในห้องปฏิบัติการ Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์นี้ในอุตสาหกรรมอื่นนอกเหนือจากอาหารหรือเครื่องดื่ม ตัวอย่าง เช่น Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้สำหรับการทดสอบตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างทางสัตวแพทย์ ชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen – *Listeria* Right Now ไม่ได้ผ่านการประเมินกับสภาพแวดล้อมในกระบวนการผลิตอาหารที่เป็นไปได้ทั้งหมด หรือเชื้อ *Listeria* ทุกสายพันธุ์ที่เป็นไปได้ Neogen แนะนำให้ทำการประเมินวิธีการในสภาพแวดล้อมของผู้ใช้ โดยใช้ตัวอย่างในจำนวนที่เพียงพอเพื่อรับมือกับความท้าทายทางสิ่งแวดล้อมที่เฉพาะเจาะจง เพื่อให้แน่ใจว่าวิธีการนั้นตรงตามเกณฑ์ของผู้ใช้

ใช้ Neogen® Right Now™ Matrix Control (RNMC96) แบบคู่เพื่อแสดงให้เห็นว่าชุดทดสอบมีความเสถียรในสภาพแวดล้อมการใช้งานจริง ทั้งตอนที่เริ่มใช้วิธีการทดสอบใหม่ หรือตอนที่ตรวจสอบยืนยันวิธีการทดสอบ

เครื่องทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen® มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้กับตัวอย่างที่ผ่านกรรมวิธีให้ความร้อนในขั้นตอนการย่อยสลายเซลล์ของการทดสอบ ซึ่งกระบวนการดังกล่าวถูกออกแบบมาเพื่อสลายเซลล์และปลดปล่อยกรดนิวคลีอิกจากจุลชีพที่อยู่ในตัวอย่าง ตัวอย่างที่ยังไม่ผ่านการให้ความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการย่อยสลายเซลล์ในการทดสอบอาจถือเป็นสิ่งที่อาจเป็นอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen

Neogen Food Safety ได้รับการรับรองมาตรฐานองค์การระหว่างประเทศว่าด้วยการมาตรฐาน (ISO) 9001 สำหรับการออกแบบและการผลิต

ชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen – *Listeria* Right Now มีรีเอเจนต์เพียงพอสำหรับการทดสอบ 96 รายการ ดังที่ระบุไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของชุดทดสอบ

รายการ	การพิสูจน์เอกลักษณ์	จำนวน	สิ่งที่บรรจุอยู่	ความคิดเห็น
Right Now™ Sampler	หลอดฝาสีน้ำเงินพร้อมเครื่องเก็บตัวอย่างโพลียูรีเทน	96 ตัวอย่าง	ชุดเก็บตัวอย่างชุ่มด้วยน้ำยาเก็บตัวอย่างปริมาตร 1.5 มล.	พร้อมใช้งาน
Right Now™ รีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับแขวนลอยและสลายเซลล์	ขวดพลาสติกใส	2 ขวด (แต่ละขวดสามารถใช้ผสมรีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์ได้ 2 ขวด)	บัฟเฟอร์สำหรับแขวนลอย	พร้อมใช้งาน
Right Now™ รีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์	ขวดแก้วใส	4 ขวด (ชนิดที่ได้รับการผสมสารละลายแล้ว แต่ละขวดสามารถบรรจุหลอดย่อยสลายเซลล์ได้ 28 หลอด)	รีเอเจนต์สำหรับสลายเซลล์	แบบแช่แข็ง
หลอดย่อยสลายเซลล์ (LS)	หลอดคลัสเตอร์ใส	96 (12 แถว แถวละ 8 หลอด)	ว่างเปล่า	จัดเรียงในชั้นวางและพร้อมใช้งาน
Listeria Right Now™ หลอดรีเอเจนต์	หลอดใสพร้อมเม็ดสารสีน้ำเงิน	96 หลอด (3 ซอง บรรจุซองละ 4 แถว แถวละ 8 หลอด)	สารผสมแบบผงแห้งแช่แข็งสำหรับการเพิ่มขยายจำนวนและการตรวจหาแบบเฉพาะเจาะจง	พร้อมใช้งาน
ฝาสำรอง	ฝาปิดใส	96 (12 แถว แถวละ 8 ฝา)		พร้อมใช้งาน
Right Now™ ตัวควบคุมดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา (Reagent Control)	หลอดใสแบบฝาฟลิป	16 (2 ถุง ถุงละ 8 หลอดเดี่ยว ๆ)	ชุดควบคุมกรดนิวคลีอิกแบบแห้งแข็ง, สารผสมสำหรับการเพิ่มปริมาณและการตรวจจับ	พร้อมใช้งาน

ความปลอดภัย

ผู้ใช้ควรอ่าน ทำความเข้าใจ และปฏิบัติตามข้อมูลความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำสำหรับระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen และชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุล – *Listeria* Right Now เก็บรักษาคำแนะนำด้านความปลอดภัยไว้เพื่อใช้อ้างอิงในอนาคต

คำเตือน:	บ่งชี้สถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่หลีกเลี่ยง อาจส่งผลให้เกิดการเสียชีวิตหรือบาดเจ็บสาหัส และ/หรือทรัพย์สินเสียหายได้
ข้อควรระวัง:	บ่งชี้สถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่หลีกเลี่ยง อาจส่งผลให้บาดเจ็บเล็กน้อยหรือปานกลาง และ/หรือทรัพย์สินเสียหายได้

คำเตือน

ห้ามใช้ชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุล – *Listeria* Right Now™ สำหรับการวินิจฉัยทางคลินิกของโรคลิสเทริโอซิสในมนุษย์หรือสัตว์

ผู้ใช้ต้องฝึกอบรมบุคลากรเกี่ยวกับเทคนิคการทดสอบที่เหมาะสมในปัจจุบัน เช่น: แนวปฏิบัติที่ดีในห้องปฏิบัติการ[1] ISO 7218:2024[2] หรือหลักความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาและชีวการแพทย์ (BMBL) ของศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติสหรัฐอเมริกา (CDC)[3]

ชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen – *Listeria* Right Now ไม่ได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อการเก็บตัวอย่างจากพื้นผิวที่ปนเปื้อน หรือเพื่อใช้ทดสอบในอาหาร

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับผลลบลวงที่นำไปสู่การใช้พื้นผิวที่มีการปนเปื้อน:

- ปฏิบัติตามโปรโตคอลและทำการทดสอบตรงตามที่ระบุไว้ในคำแนะนำผลิตภัณฑ์ทุกประการ
- ใช้แนวปฏิบัติที่ดีในห้องปฏิบัติการเสมอในการถ่ายโอนตัวอย่างและรีเอเจนต์ในระหว่างการปฏิบัติงานตามขั้นตอน
- จัดเก็บชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุล – *Listeria* Right Now ตามที่ระบุไว้บนบรรจุภัณฑ์และในคำแนะนำผลิตภัณฑ์
- ใช้ชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุล – *Listeria* Right Now ก่อนวันหมดอายุเสมอ
- ใช้ตัวอย่างที่อยู่ในชุดตรวจเสมอ ห้ามใช้ตัวอย่างจากแหล่งอื่น
- Right Now Sampler เป็นแบบใช้ครั้งเดียว
- ห้ามหยุด หลังจากเริ่มกระบวนการการเติมน้ำให้เม็ดรีเอเจนต์แล้ว
- ขอแนะนำอย่างยิ่งว่าควรแจ้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหญิงให้ทราบถึงความเสี่ยงต่อทารกในครรภ์ซึ่งเกิดจากการที่มารดาติดเชื้อจากการสัมผัสเชื้อ

Listeria monocytogenes

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารเคมีและสิ่งที่เป็นอันตรายทางชีวภาพ:

- ทำการทดสอบจุลินทรีย์ก่อโรคในห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์เหมาะสมภายใต้การควบคุมของบุคลากรที่ผ่านการฝึกอบรม
- ผู้ใช้ต้องทำความสะอาดพื้นผิวที่สัมผัสอาหารเพื่อขจัดสารละลายจากการป้ายที่เหลืออยู่

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนข้ามในขณะที่เตรียมชุดทดสอบ:

- สวมถุงมือเสมอ (เพื่อปกป้องผู้ใช้และป้องกันการเกิดนิวคลีเอส)

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม:

- ปฏิบัติตามข้อกำหนดของท้องถิ่น ภูมิภาค และประเทศสำหรับข้อกำหนดด้านการกำจัดของเสีย

ข้อควรระวัง

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสของเหลวร้อน:

- ห้ามตั้งอุณหภูมิเครื่องทำความร้อนเกินอุณหภูมิที่แนะนำ
- ห้ามให้ความร้อนเกินเวลาที่แนะนำ
- ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่เหมาะสมและสอบเทียบแล้วเพื่อตรวจสอบยืนยันอุณหภูมิของ Neogen® Molecular Detection Heat Block Insert (เช่น เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วนหรือเทอร์โมมิเตอร์คู่ควบอุณหภูมิแบบดิจิทัล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) โดยจะต้องวางเทอร์โมมิเตอร์ในบริเวณที่กำหนดไว้ของฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนข้ามในขณะที่เตรียมชุดทดสอบ:

- เปลี่ยนถุงมือก่อนทำการเติมน้ำให้เม็ดรีเอเจนต์
- แนะนำให้ใช้ก้านปิเปตปลายยาวชนิดผ่านการฆ่าเชื้อ มีแผ่นกรองเพื่อป้องกันละอองลอย (มีตัวกรอง) และเป็นเกรดที่ใช้สำหรับการทดลองทางชีววิทยาระดับโมเลกุล
- ใช้ปิเปตทิปอันใหม่สำหรับการดูดจ่ายตัวอย่างแต่ละครั้ง
- ใช้แนวทางปฏิบัติที่ดีในห้องปฏิบัติการในการดูดจ่ายตัวอย่างไปยังหลอดย่อยสลายเซลล์ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้ามระหว่างตัวอย่าง ผู้ใช้งานอาจเลือกทำความสะอาดก้านปิเปตด้วยผ้าชุบสารละลายฟอกขาว 10% ตามด้วยผ้าแห้งสะอาด หรือใช้หัวปิเปตชนิดยาวพิเศษที่มีความยาวมากขึ้น
- ใช้โต๊ะปฏิบัติการทางชีววิทยาโมเลกุลที่มีหลอดไฟฆ่าเชื้อ หากมี ฆ่าเชื้อโต๊ะปฏิบัติการและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (ปิเปต เครื่องมือเปิด/ปิดฝา เป็นต้น) เป็นระยะๆ ด้วยสารละลายฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1–5% (โดยปริมาตรในน้ำ) หรือสารละลายกำจัดอาร์เอ็นเอ
- ฆ่าเชื้อโต๊ะปฏิบัติการและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (ปิเปต เครื่องมือเปิด/ปิดฝา ชั้นวางหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา เป็นต้น) เป็นระยะ ๆ ด้วยสารละลายฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนประเภทคลอรีนในความเข้มข้น 1–5% (โดยปริมาตรในน้ำ) หรือสารละลายกำจัดกรดนิวคลีอิก

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับผลบวกลวง:

- ห้ามเปิดหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาหลังการเพิ่มขยายจำนวน
- กำจัดหลอดที่มีการปนเปื้อนแล้วเสมอ โดยแช่ในสารละลายฟอกขาวในครัวเรือนประเภทคลอรีน (ซึ่งมีส่วนผสมของโซเดียมไฮโปคลอไรต์) ในความเข้มข้น 1–5% (โดยปริมาตรในน้ำ) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และห่างจากบริเวณที่เตรียมชุดทดสอบ
- ห้ามใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อหลอดรีเอเจนต์หลังการเพิ่มขยายจำนวน

ศึกษาเอกสารข้อมูลความปลอดภัยสำหรับข้อมูลเพิ่มเติมและข้อบังคับการกำจัดของท้องถิ่น ภูมิภาค และประเทศ

หากคุณมีข้อสงสัยเกี่ยวกับแอปพลิเคชันหรือขั้นตอนที่เฉพาะเจาะจง โปรดไปที่เว็บไซต์ของเราที่ neogen.com หรือติดต่อตัวแทนหรือผู้จัดจำหน่าย Neogen ในท้องถิ่นของคุณ

ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการทำความคุ้นเคยกับคำแนะนำและข้อมูลผลิตภัณฑ์ โปรดไปที่เว็บไซต์ของเราที่ neogen.com หรือติดต่อตัวแทน หรือผู้จัดจำหน่ายของ Neogen ในท้องถิ่นของคุณหากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม

เมื่อเลือกวิธีการทดสอบ สิ่งสำคัญคือต้องตระหนักว่าปัจจัยภายนอก เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง โปรโตคอลการทดสอบ การเตรียมตัวอย่าง การจัดการ เทคนิคในห้องปฏิบัติการ และตัวอย่างเองอาจส่งผลต่อผลลัพธ์

ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบหรือผลิตภัณฑ์ใด ๆ เพื่อประเมินตัวอย่างในจำนวนที่เพียงพอซึ่งมีเมทริกซ์และการจงใจเติมเชื้อที่เหมาะสม เพื่อให้ผู้ใช้แน่ใจว่าวิธีการทดสอบที่เลือกตรงตามเกณฑ์ของผู้ใช้

นอกจากนี้ผู้ใช้ยังมีหน้าที่รับผิดชอบในการประเมินว่าวิธีการทดสอบใดๆ และผลที่ได้นั้นเป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและซัพพลายเออร์

เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบใดๆ ผลที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ใดก็ตามไม่ถือเป็นการรับประกันคุณภาพของตัวอย่างหรือกระบวนการที่ทดสอบ

เพื่อช่วยให้ลูกค้าสามารถประเมินความเหมาะสมของวิธีการทดสอบสำหรับวัตถุประสงค์ที่กำหนดในระหว่างการนำไปใช้งาน Neogen ได้พัฒนาชุดตัวควบคุมดูผลของเมทริกซ์ Right Now ในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen® (เรียกอีกอย่างว่า การควบคุมการเพิ่มขยายจำนวน ตามมาตรฐาน ISO 24914:2026[4]) ใช้ตัวควบคุมดูผลของเมทริกซ์ Right Now (RNMC96) เพื่อประเมินการรบกวนจากเมทริกซ์ต่อผลลัพธ์ของชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen – *Listeria* Right Now ในระหว่างการตรวจสอบความถูกต้องและการยืนยันผล ปฏิบัติตามมาตรฐาน ISO 16140-3:2021(5) และ / หรือโปรแกรมประกันคุณภาพขององค์กรของคุณ เพื่อกำหนดจำนวนตัวอย่างที่เป็นตัวแทนที่เหมาะสมในการยืนยันสมรรถนะของวิธีการและกำหนดขอบเขตการประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการของคุณ การใช้ตัวควบคุมดูผลของเมทริกซ์ Right Now เป็นประจำไม่จำเป็นต้องดำเนินการอีกต่อไป เมื่อวิธีการได้รับการยืนยันและขอบเขตการประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการได้รับการกำหนดแล้ว ให้ปฏิบัติตามโปรแกรมประกันคุณภาพขององค์กรเพื่อพิจารณาเป็นรายกรณีถึงความจำเป็นในการใช้ตัวควบคุมเมทริกซ์ Right Now และความถี่ในการใช้งานระหว่างการทดสอบตามปกติ

การจำกัดการรับประกัน / การชดเชยแบบจำกัด

ยกเว้นตามที่ระบุไว้อย่างชัดแจ้งในหัวข้อการรับประกันแบบจำกัดในบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชิ้น NEOGEN ปฏิเสธการรับประกันโดยชัดแจ้งและโดยนัยทั้งหมด ซึ่งรวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการรับประกันใด ๆ ถึงความสามารถในการวางจำหน่ายหรือความเหมาะสมสำหรับการใช้งานโดยเฉพาะ หากผลิตภัณฑ์ใด ๆ ของ Neogen Food Safety มีข้อบกพร่อง Neogen หรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตจะพิจารณาเลือกเปลี่ยนแทนผลิตภัณฑ์หรือคืนเงินตามราคาซื้อของผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ซึ่งเป็นการชดเชยพิเศษของคุณ คุณต้องแจ้ง Neogen ทันทีภายในหกสิบวันหลังจากเกิดข้อสงสัยว่าผลิตภัณฑ์มีข้อบกพร่องใด ๆ และส่งผลิตภัณฑ์คืนให้กับ Neogen โปรดติดต่อตัวแทน Neogen Food Safety ของคุณหรือผู้จัดจำหน่าย Neogen ที่ได้รับอนุญาตหากมีคำถามเพิ่มเติม

การจำกัดความรับผิดของ Neogen

NEOGEN จะไม่รับผิดต่อความสูญเสียหรือความเสียหายใดๆ ไม่ว่าจะเป็นความเสียหายโดยตรง ความเสียหายโดยอ้อม ความเสียหายเฉพาะ ความเสียหายอันเนื่องมาจากการผิดสัญญา หรือความเสียหายสืบเนื่อง ซึ่งรวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ไม่ว่าในกรณีใดก็ตาม ความรับผิดของ Neogen ภายใต้ทฤษฎีทางกฎหมายใดก็ตามจะไม่เกินราคาซื้อของผลิตภัณฑ์ที่ถูกกล่าวหาว่ามีข้อบกพร่อง

สำหรับข้อกำหนดและเงื่อนไขฉบับเต็มของ Neogen กรุณาเยี่ยมชม: neogen.com/en/terms-and-conditions/

การจัดเก็บและการกำจัด

เก็บชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen® – *Listeria* ไว้ที่อุณหภูมิ 2–8 °C ห้ามแช่แข็ง เก็บชุดทดสอบให้พ้นแสงในระหว่างการจัดเก็บ

หลังจากเปิดชุดอุปกรณ์แล้ว ให้ตรวจสอบว่าถุงฟอยล์ พลาสติก และขวดแก้วไม่ได้รับความเสียหาย หากส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์เสียหาย ห้ามใช้ โดยเด็ดขาด

หลังจากเปิดแล้ว ควรเก็บหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาที่ยังไม่ได้ใช้ไว้ในถุงที่ปิดผนึกซ้ำได้เสมอโดยมีสารดูดความชื้นอยู่ภายในเพื่อรักษาความคงตัวของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาซึ่งเป็นผงแห้งแช่แข็ง เก็บถุงที่ปิดผนึกซ้ำไว้ที่อุณหภูมิ 2–8 °C เป็นเวลาไม่เกิน 60 วัน

หลังการใช้งาน ให้ปิดจุกขวดรีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับแขวนลอยและสลายเซลล์ Right Now™ ให้แน่นสนิท

รีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์ Right Now™ ที่ได้รับการเตรียมใหม่แล้ว สามารถจัดเก็บในภาชนะปิดฝาที่อุณหภูมิ 2–8 °C เป็นระยะเวลาไม่เกิน 21 วัน

หากจำเป็น สามารถใช้ Parafilm® พันรอบฝาขวดรีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์เพื่อยึดให้แน่นหนายิ่งขึ้นได้

ห้ามใช้ชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen® – *Listeria* Right Now หลังวันหมดอายุ วันหมดอายุและหมายเลขล็อตมีระบุไว้บนฉลากด้านนอกของกล่อง

เมื่อการทดสอบเสร็จสมบูรณ์ ให้ปฏิบัติตามข้อบังคับท้องถิ่น ภูมิภาค และประเทศสำหรับการกำจัดของเสียที่มีการปนเปื้อน ศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในเอกสารข้อมูลความปลอดภัย

คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง

AOAC® *Performance Tested Methods℠* (PTM) ใบรับรองเลขที่ 042604

วิธีนี้ได้รับการรับรอง AOAC *Performance Tested Methods* (PTM) ในโปรแกรม PTM ของสถาบันวิจัย AOAC วิธี Neogen Molecular Detection Assay-*Listeria* Right Now ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการตรวจหาเชื้อ *Listeria* spp. ทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต บนพื้นผิวสเตนเลสสตีล (ขนาดสูงสุด 4” x 4”)

คำแนะนำการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ การไม่ปฏิบัติตามอาจทำให้ได้ผลที่ไม่ถูกต้อง

ฆ่าเชื้อโต๊ะปฏิบัติการและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (ปิเปต เครื่องมือเปิด/ปิดฝา ชั้นวางหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา เป็นต้น) เป็นระยะ ๆ ด้วยสารละลายฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนประเภทคลอรีนในความเข้มข้น 1–5% (โดยปริมาตรในน้ำ) หรือสารละลายกำจัดกรดนิวคลีอิก

ผู้ใช้ควรผ่านการฝึกอบรมการตรวจรับรองผู้ปฏิบัติงานระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen® ตามที่อธิบายไว้ในเอกสาร “โปรโตคอลการตรวจรับรองการติดตั้ง (Installation Qualification หรือ IQ) / การตรวจรับรองการทำงาน (Operational Qualification หรือ OQ) และคำแนะนำสำหรับระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen”[6]

1. การเตรียม Right Now™ Sampler

1.1 เขียนรหัส (ID) ตัวอย่างลงบนหลอด Right Now Sampler

1.2 ดีดหลอด Right Now Sampler สองครั้ง เพื่อให้สารละลายตัวอย่างไหลลงไปที่ก้นหลอด

1.3 เปิดหลอด Right Now Sampler และกด Sampler เข้ากับผนังด้านในหลอด เพื่อไล่น้ำยาเก็บตัวอย่างส่วนเกินออก

1.4 เทสารละลายตัวอย่างส่วนเกินออกจากหลอด

1.5 ใส่ Right Now Sampler กลับคืนในหลอดเปล่า

2. การเก็บตัวอย่าง

2.1. เก็บตัวอย่างบนพื้นผิวโดยการป้ายในแนวนอน แนวตั้ง และแนวทแยงมุมเพื่อให้ครอบคลุมพื้นที่ทดสอบอย่างเต็มที่ (1 × 1 นิ้ว ถึง 12 × 12 นิ้ว, 2.5 × 2.5 ซม. ถึง 30 × 30 ซม.) พลิกไม้ปาด Right Now Sampler ไปอีกด้านหนึ่ง แล้วเช็ดบนพื้นผิวเดิมซ้ำอีกครั้ง

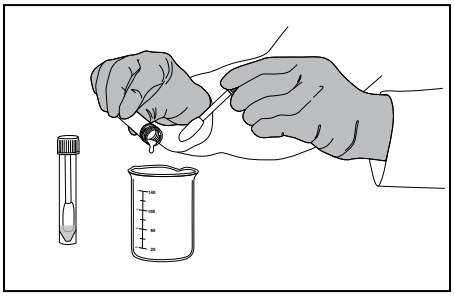
2.2. ใส่ไม้ปาด Right Now Sampler กลับคืนในหลอดเปล่า

2.3. เก็บไม้ปาดไว้ที่อุณหภูมิ 2–8 °C หากยังไม่ทำการทดสอบทันที โดยสามารถเก็บไม้ปาด Right Now Sampler ได้นานถึง 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 2–8 °C ก่อนนำไปทดสอบ การเก็บรักษาตัวอย่างอยู่นอกขอบเขตของการตรวจสอบความถูกต้องของ AOAC

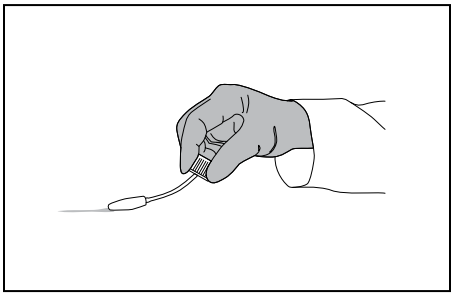
3. การเตรียมรีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์ Right Now™ (เอนไซม์ไลติก)

3.1. ผสมสารรีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์ Right Now™ ซึ่งอยู่ในรูปแบบผงแห้งกับรีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับแขวนลอยและสลายเซลล์ Right Now™ จำนวน 28 มล. ในขวดเดียวกัน หมุนขวดเบาๆ เพื่อให้เข้ากัน แล้วนำไปวางไว้ในอุณหภูมิห้องก่อนนำไปใช้งาน

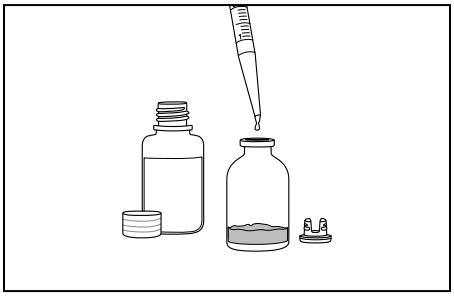
หมายเหตุ: บัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์ที่คืนน้ำแล้วสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2–8 °C ได้นาน 21 วัน จดบันทึกวันที่ผสมเอนไซม์ไลติกไว้บนขวด



เทสารละลายในหลอดออกอย่างปราศจากเชื้อก่อนทำการป้ายเก็บตัวอย่าง



เช็ดพื้นผิวโดยการปาดในแนวนอน แนวตั้ง และแนวทแยง เพื่อให้ครอบคลุมพื้นที่ที่ต้องการทดสอบทั้งหมด (ขนาด 1×1 นิ้วถึง 12×12 นิ้ว) พลิกไม้ปาด Right Now Sampler ไปอีกด้านหนึ่ง แล้วเช็ดบนพื้นผิวเดิมซ้ำอีกครั้ง



ละลายผงเอนไซม์ไลติกในขวดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับผสม 28 มิลลิลิตร หมุนขวดเบาๆ เพื่อให้เข้ากัน แล้วนำไปวางไว้ในอุณหภูมิห้องก่อนนำไปใช้งาน

การเตรียมอุปกรณ์

4. การเตรียมถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen®

4.1 ชุบผ้าหรือกระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งในสารละลายฟอกขาวในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1–5% (โดยปริมาตรในน้ำ) แล้วเช็ดถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen

4.2 ใช้น้ำล้างถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen

4.3 ใช้กระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งเช็ดถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ให้แห้ง

4.4 ตรวจสอบให้แน่ใจว่าถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen แห้งสนิทก่อนใช้งาน

การดำเนินการตามขั้นตอนนี้ต้องใช้ถาดฮีทบล็อก/ชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen จำนวน 2 ชิ้น ทั้งสองชิ้นเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดเดียวกัน (รหัสสินค้า 700000145) แต่ใช้สำหรับหน้าที่ที่แตกต่างกัน

เพื่อความชัดเจนในขั้นตอนการปฏิบัติงาน ถาดสำหรับขั้นตอนการให้ความร้อนจะเรียกว่า ถาดฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุล และถาดสำหรับขั้นตอนการทำให้เย็นจะเรียกว่า ถาดชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุล โดยการเรียกชื่อดังกล่าวใช้เพื่อแยกแยะหน้าที่การทำงานเท่านั้น และไม่ได้หมายความว่าเป็นผลิตภัณฑ์แยกจากกัน

5. การเตรียมชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen®

5.1 วางชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ไว้บนโต๊ะปฏิบัติการโดยตรง ใช้บล็อกที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติกา รโดยรอบ

6. การเตรียมฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen®

6.1 ใส่ฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ลงในชุดเครื่องทำความร้อนแบบบล็อกคู่แห้ง: เปิดชุดเครื่องทำความร้อนแบบบล็อกแห้งและตั้งอุณหภูมิเพื่อให้ฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึงและคงอยู่ที่ 100 ± 1 °C

หมายเหตุ: ขึ้นอยู่กับเครื่องทำความร้อน ให้รอประมาณ 30 นาทีเพื่อให้ฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen มีอุณหภูมิที่กำหนด ตรวจสอบยืนยันว่าฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen มีอุณหภูมิ 100 ± 1 °C โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่เหมาะสมและสอบเทียบแล้ว (เช่น เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วน เทอร์โมมิเตอร์คู่ควบอุณหภูมิแบบดิจิทัล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) วางไว้ในบริเวณที่กำหนด

7. การเตรียมเครื่องมือการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen®

7.1 เริ่มต้นการใช้งานซอฟต์แวร์การตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen® และเข้าสู่ระบบ ติดต่อตัวแทน Neogen Food Safety ของคุณเพื่อให้แน่ใจว่าคุณมีซอฟต์แวร์เวอร์ชันที่อัปเดตล่าสุด

7.2 เปิดเครื่องมือการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen

7.3 สร้างการรันใหม่หรือแก้ไขการรันที่มีอยู่โดยเลือกหลุมสำหรับแต่ละตัวอย่าง ดูรายละเอียดในคู่มือการใช้ระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen

7.4 สำหรับการทดสอบ *Listeria* Right Now (LRN) ให้เลือกไอคอน LRN บนซอฟต์แวร์การตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen และกำหนดให้กั บแต่ละหลุม

7.5 กำหนดไอคอน LRN NC และ LRN RC ให้กับหลุมที่เกี่ยวข้องสำหรับการควบคุมเชิงลบ และการควบคุมสารทำปฏิกิริยาตามลำดับ

7.6. ตั้งค่า LRN NC หนึ่งหลุมสำหรับการรันแต่ละครั้ง และ LRN RC หนึ่งหลุมสำหรับแต่ละชุดอุปกรณ์

หมายเหตุ: เครื่องมือการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ต้องมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึงและคงอยู่ที่ 60 °C ก่อนที่จะใส่ถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ซึ่งมีหลอดปฏิกิริยาอยู่ ขั้นตอนการทำความร้อนนี้ใช้เวลาประมาณ 20 นาทีและจะบ่งชี้ด้วยไฟสีส้มบนแถบสถานะของเครื่องมือ เมื่อเครื่องมือพร้อมที่จะเริ่มต้นการรัน แถบสถานะจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว

8. การสลายเซลล์สำหรับชุดทดสอบ *Listeria* Right Now™

8.1 ถ่ายรีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์ Right Now™ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.1 จำนวน 1 มล. ลงในหลอด Right Now Sampler ที่ใช้เก็บตัวอย่าง (ดูหัวข้อที่ 2) หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับด้านข้างของหลอด Right Now Sampler และควรเปลี่ยนทิปใหม่ทุกครั้งเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของบัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์

หมายเหตุ: นำบัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์ที่ไม่ได้ใช้กลับเข้าตู้เย็นหลังใช้งาน (ภายใน 1 ชั่วโมง)

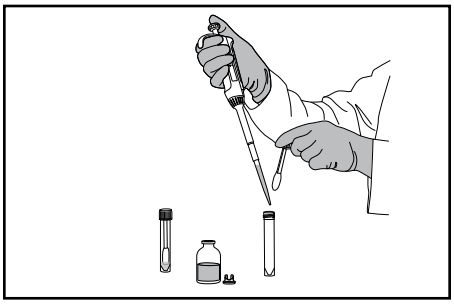
8.2 ปิดฝาหลอด ผสมหลอด Right Now Sampler ด้วยเครื่องผสมแบบเกลียวอย่างรุนแรงเป็นเวลา 5-10 วินาที เพื่อให้ตัวอย่างออกมาจาก Right Now Sampler

8.3 นำหลอดคลัสเตอร์ใส่ในแร็คที่ว่างเปล่า โดยใช้หลอดหนึ่งหลอดต่อหนึ่งตัวอย่างที่จะทดสอบ ใส่หลอดคลัสเตอร์เปล่าเพิ่มเติมอีกหนึ่งหลอดสำหรับทำเป็นตัวควบคุมผลลบ (NC)

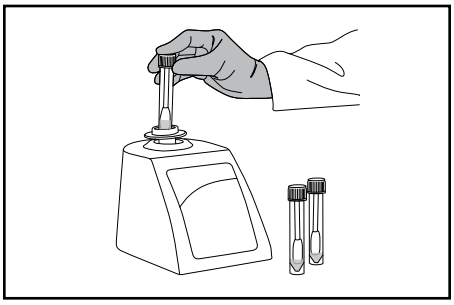
8.4 นำ Right Now Sampler ออกจากหลอดที่เตรียมไว้ใน 8.1 แล้ววางตั้งบนฝาของหลอดบนโต๊ะปฏิบัติการ หลีกเลี่ยงการสัมผัส Sampler เพื่อป้องกันการปนเปื้อน

8.5 ถ่ายสารละลาย 500 µL จากแต่ละหลอด Right Now Sampler ไปยังหลอดคลัสเตอร์ที่ว่างเปล่าที่สอดคล้องกันโดยใช้ทิปปิเปตแบบยาว แล้วนำ Sampler ใส่กลับไปในหลอดเดิมและปิดฝาให้แน่น

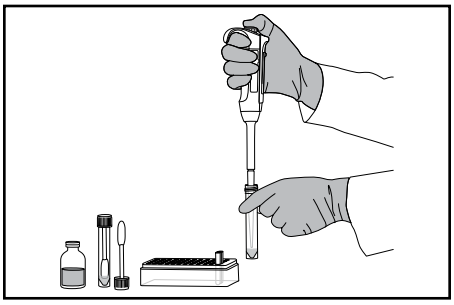
หมายเหตุ: ขอแนะนำให้ใช้ทิปปิเปตแบบยาว (ที่ยาวกว่าทิปปิเปตมาตรฐาน) ในกรณีที่ก้านปิเปตสัมผัสกับหลอด Right Now Sampler ให้ทิ้งทิปปิเปตแล้วใช้ผ้าที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายฟอกขาว 1-5% เช็ดก้านปิเปตให้สะอาด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้ามระหว่างตัวอย่าง



ถ่ายสารละลายรีเอเจนต์บัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์ Right Now™ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง Right Now™ Sampler ที่ใช้สำหรับเก็บสิ่งส่งตรวจ หลีกเลี่ยงการสัมผัสด้านข้างของหลอด Sampler



ปิดฝาหลอด เขย่าหลอดเก็บตัวอย่างอย่างแรงด้วยเครื่องผสมแบบเกลียว เป็นเวลา 5-10 วินาที เพื่อให้ตัวอย่างออกมาจากหลอด



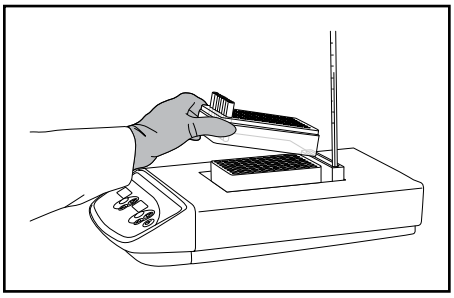
ใช้ปลายปิเปตแบบยาวดูดตัวอย่างจากหลอดเก็บตัวอย่างหลอดละ 500 ไมโครลิตร (µL) แล้วย้ายไปยังหลอดคลัสเตอร์เปล่าที่ตรงกัน

8.6 เมื่อถ่ายสารละลายตัวอย่างทั้งหมดแล้ว ให้เตรียม NC โดยถ่ายบัฟเฟอร์สำหรับสลายเซลล์ (ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.1) จำนวน 500 µL ลงในหลอดคลัสเตอร์เปล่า ห้ามใช้น้ำเป็น NC

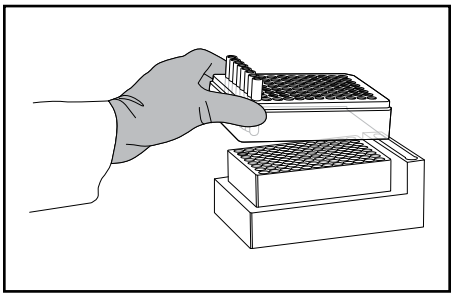
8.7 ตรวจสอบยืนยันว่าฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen มีอุณหภูมิ 100 ± 1°C

8.8 **ขั้นตอนการให้ความร้อน:** นำแร็คของหลอดคลัสเตอร์ที่เปิดฝาแล้ววางลงในฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen และให้ความร้อนเป็นเวลา 10 ± 1 นาที ในระหว่างการให้ความร้อน สารละลายอาจขุ่นขึ้นได้

8.9 **ขั้นตอนการทำให้เย็น:** นำชั้นวางที่มีหลอดคลัสเตอร์ออกจากบล็อกทำความร้อน และปล่อยให้เย็นในชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen อย่างน้อย 5 นาทีและไม่เกิน 60 นาที ควรวางชิลบล็อกที่อุณหภูมิห้องบนโต๊ะปฏิบัติการโดยตรง เมื่อสารละลายเย็นลงควรกลับมาใสเหมือนเดิม



นำชั้นวางที่มีหลอดคลัสเตอร์ซึ่งไม่ปิดฝาไปวางในฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen แล้วให้ความร้อนเป็นเวลา 10 ± 1 นาที ระหว่างให้ความร้อน สารละลายอาจมีลักษณะขุ่นขึ้นได้



นำชั้นวางที่มีหลอดคลัสเตอร์ออกจากบล็อกทำความร้อน และปล่อยให้เย็นในชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen อย่างน้อย 5 นาทีและไม่เกิน 60 นาที

9. การเพิ่มขยายจำนวน

9.1 ใช้หลอดสารทำปฏิกิริยาในชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen – *Listeria* Right Now หนึ่งหลอดสำหรับแต่ละตัวอย่างและ NC

9.1.1 สามารถตัดแถวของหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาให้มีจำนวนหลอดที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาเดี่ยวๆ หรือจำนวนแถวที่มี 8 หลอดตามที่ต้องการ

9.1.2 หลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาขึ้นมาจากก้นหลอด

9.2 นำหลอดตัวควบคุมดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา *Listeria* Right Now Reagent Control (RC) หนึ่งหลอดแล้ววางไว้ในแร็ค

9.3 สำหรับสารละลาย LRN NC ให้เลือกและวางหลอดตัวควบคุมดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา *Listeria* Right Now หนึ่งหลอดในชั้นวางเดียวกัน เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม ให้เปิดฝาหลอดแถบสารทำปฏิกิริยาครั้งละหนึ่งแถบและใช้ทิปปิเปตใหม่สำหรับการถ่ายสารละลายแต่ละครั้ง

9.4 ถ่ายสารละลายไปยังหลอดตัวควบคุมดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา *Listeria* Right Now ตามขั้นตอนด้านล่าง

9.5 ใช้เครื่องมือปิด/ถอดฝา-รีเอเจนต์สำหรับการตรวจจับระดับโมเลกุล ของ Neogen® เพื่อถอดฝาหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา — ทีละแถบหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา แล้วทิ้งฝา

9.5.1 ถ่ายสารละลายตัวอย่าง 50 µL จากครึ่งบนของของเหลวในหลอดคลัสเตอร์ (หลีกเลี่ยงตะกอน) ลงในหลอดสารทำปฏิกิริยา Neogen *Listeria* Right Now โดยปล่อยสารละลายด้านข้างหลอดเพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา ผสมโดยใช้ปิเปตดูดขึ้นและปล่อยลงเบา ๆ 5 ครั้ง

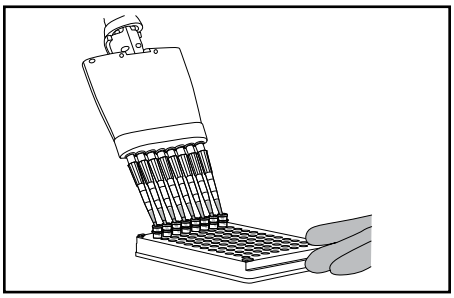
9.5.2 ทำซ้ำขั้นตอน 9.5.1 จนกว่าจะใส่สารละลายตัวอย่างแต่ละตัวอย่างลงในหลอดสารทำปฏิกิริยาในแถบจนครบ

9.5.3 ปิดหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาด้วยฝาสำรองที่ให้มา แล้วใช้ด้านโค้งมนของเครื่องมือเปิด/ปิดฝารีเอเจนต์ในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen สำหรับสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา เพื่อออกแรงกดกลับไปกลับมาให้แน่ใจว่าฝาปิดแน่นแล้ว

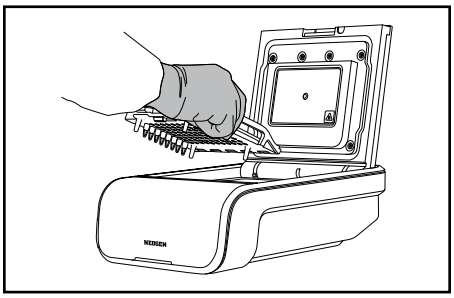
9.5.4 ทำขั้นตอนที่ 9.5.1 ถึง 9.5.3 ซ้ำเท่าที่จำเป็นตามจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ

9.5.5 เมื่อถ่ายสารละลายตัวอย่างทั้งหมดแล้ว ให้ถ่ายสารละลาย NC 50 µL ลงในหลอดสารทำปฏิกิริยา *Listeria* Right Now Reagent หนึ่งหลอด ผสมโดยใช้ปิเปตดูดขึ้นและปล่อยลงเบาๆ 5 ครั้ง

9.5.6 สุดท้าย ให้ถ่ายสารละลาย NC 50 µL ลงในหลอดตัวควบคุมดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริ Right Now™ ผสมโดยใช้ปิเปตดูดขึ้นและปล่อยลงเบาๆ 5 ครั้ง



ดูดสารจากการย่อยสลายตัวอย่าง 50 µL จากครึ่งบนของหลอดคลัสเตอร์ลงในหลอดสาร LRN โดยปล่อยสารละลายด้านข้างหลอดเพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา ผสมโดยใช้ปิเปตดูดขึ้นและปล่อยลงเบา ๆ 5 ครั้ง



ใส่หลอดที่ปิดฝาแล้วลงในถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ที่สะอาดและขจัดสิ่งปนเปื้อนแล้ว ปิดและวางลงใน Neogen MDS ปิดฝาเพื่อเริ่มการทดสอบ

9.6 ใส่หลอดที่ปิดฝาแล้วลงในถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ที่สะอาดและขจัดสิ่งปนเปื้อนแล้ว ปิดและใส่สลักฝาปิดถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen

9.7 ตรวจสอบและยืนยันการรันที่กำหนดค่าไว้ในซอฟต์แวร์ระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen

9.8 คลิกปุ่ม เริ่มต้น ในซอฟต์แวร์และเลือกเครื่องมือที่จะใช้ ฝาปิดเครื่องมือที่เลือกจะเปิดโดยอัตโนมัติ

9.9 วางถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ลงในเครื่องมือการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen แล้วปิดฝาเพื่อเริ่มการทดสอบ จะได้รับผลภายใน 45 นาที แม้ว่าอาจตรวจพบผลบวกได้เร็วกว่านี้

9.10 หลังจากการทดสอบเสร็จสมบูรณ์ ให้นำถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ออกจากเครื่องมือการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen แล้วกำจัดหลอดต่าง ๆ โดยแช่ในสารละลายฟอกขาวในครัวเรือนประเภทคลอรีนที่มีความเข้มข้น 1–5% (โดยปริมาตรในน้ำ) เป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง และห่างจากบริเวณที่เตรียมชุดทดสอบ

หมายเหตุ: เพื่อลดความเสี่ยงของผลบวกลวงอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนข้าม ห้ามเปิดหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาซึ่งมีดีเอ็นเอที่เพิ่มขยายจำนวนแล้ว กำจัดหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาซึ่งปิดสนิทแล้วเสมอ โดยแช่ในสารละลายฟอกขาวในครัวเรือนประเภทคลอรีนที่มีความเข้มข้น 1-5% (โดยปริมาตรในน้ำ) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และห่างจากบริเวณที่เตรียมชุดทดสอบ

ผลและการแปลผล

อัลกอริทึมจะแปลผลกราฟของแสงที่ปล่อยออกมาซึ่งเกิดจากการตรวจพบการเพิ่มขยายจำนวนกรดนิวคลีอิก ซอฟต์แวร์จะทำการวิเคราะห์ผลโดยอัตโนมัติแล้วทำการเข้ารหัสสีตามผลที่ได้ ผลบวกหรือผลลบประเมินโดยการวิเคราะห์พารามิเตอร์เฉพาะจำนวนหนึ่งจากกราฟ จะมีการรายงานผลบวกแบบเรียลไทม์ ในขณะที่ผลลบจะแสดงหลังจากการรันเสร็จสมบูรณ์แล้ว

หมายเหตุ: แม้แต่ตัวอย่างที่เป็นลบก็จะไม่ให้ค่าที่เป็นศูนย์เนื่องจากระบบและสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาเพิ่มขยายจำนวนในชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุลของ Neogen – *Listeria* Right Now มีค่าหน่วยแสงสัมพัทธ์ (relative light unit หรือ RLU) ที่อ่านได้เป็น “พื้นหลัง”

ตารางที่ 2: สัญลักษณ์ผลลัพธ์สำหรับตัวอย่างและการแปลผลตามที่แสดงโดยซอฟต์แวร์ระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen

ประเภทหลุม	สัญลักษณ์แทนผลของหลุม	ผล	การแปลผล
ตัวอย่าง		บวก	ตัวอย่างมีผลบวกสำหรับ *Listeria* spp
ตัวอย่าง		ลบ	ตัวอย่างมีผลลบสำหรับ *Listeria* spp
ตัวอย่าง		ถูกยับยั้ง	เมทริกซ์ในตัวอย่างมีฤทธิ์ยับยั้งสำหรับการทดสอบ อาจต้องทำการทดสอบซ้ำ
ตัวอย่าง		เกิดข้อผิดพลาด	ตรวจไม่พบการเรืองแสงทางชีวภาพ อาจต้องทำการทดสอบซ้ำ

*โปรดดูรายงานการรันสำหรับรายละเอียดเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลลัพธ์ หากจำเป็น โปรดติดต่อผู้จัดจำหน่ายของ Neogen ในท้องถิ่นของคุณเพื่อขอความช่วยเหลือในการแก้ไขปัญหา

การยืนยันผล

ไม่สามารถยืนยันผลที่สันนิษฐานว่าเป็นบวกได้ด้วยวิธีนี้ ผู้ใช้อาจปฏิบัติตามโปรโตคอลการทำความสะอาดและการทดสอบซ้ำที่เหมาะสม หรือหากจำเป็นต้องมีโคโลนีที่แยกจากกัน ให้ป้ายพื้นที่ทดสอบอีกครั้งและทำการทดสอบด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อที่ระบุไว้ใน FDA BAM บทที่ 10(7) หรือ ISO 11290-1(8)

เอกสารอ้างอิง

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies
2. NF EN ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
3. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition. Effective Date: 29 August 2025
4. ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions. International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org
5. ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.
7. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 10: Detection of Listeria monocytogenes in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods (April 22)
8. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp. - Part 1: Detection method, https://www.iso.org/standard/60313.html

คำอธิบายสัญลักษณ์

www.neogen.com/foodsafety/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
Auchincruive House
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

KO (한국어)

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 042604

제품 지침

Neogen® Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now™

제품 설명 및 사용 목적

Neogen Molecular Detection Assay – Listeria Right Now(MDALRN96) 키트는 Neogen® Molecular Detection System과 함께 사용되고, 생존(viable) 및 사멸(non-viable) 상태의 *리스테리아*(*Listeria* spp.)를 신속하고 특이적으로 검출합니다. 를 증균 과정 없이 신속하고 특이적으로 검출할 수 있습니다. 이 키트는 샘플 채취 용액이 적셔진 Neogen Right Now™ 샘플러를 사용하여, 식품 및 음료 제조 시설 환경에서 *Listeria*를 모니터링합니다. 이 방법은 추정 결과만을 제공하며, 확정 목적으로는 사용되지 않습니다.

이 분석법은 표적 미생물의 존재 여부를 확인하기 위해 환경 표면에서 rRNA(리보솜 RNA)를 검출합니다. rRNA는 미생물이 더 이상 생존하지 않는 상태에서도 잔존할 수 있으므로, 이 방법은 살아있는 세포만을 검출하는 전통적인 배양 기반 방법으로는 회수되지 않는 미생물에 대해서도 양성 결과를 나타낼 수 있습니다. 이 분석은 샘플 채취 용액이 적셔진 Neogen Right Now™ 샘플러를 사용하여, 식품 및 음료 제조 시설 환경에서 *리스테리아를* 모니터링합니다.

이 스크리닝 키트에는 리스테리아를 검출하기 위해 파란색의 동결건조 시약 펠릿이 담긴 튜브가 포함되어 있습니다.

Right Now 샘플러를 사용하여 샘플을 채취한 후, 내용물을 용해하여 핵산을 방출시킵니다. 그런 다음 리보솜 RNA를 상보적 DNA(cDNA)로 역전사합니다. 이 분석은 루프 매개 등온 증폭 (LAMP) 기술을 사용하여 핵산을 신속하고 매우 특이적이며 민감하게 증폭하며, 생물발광을 통해 증폭 산물을 검출합니다.

Neogen Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now는 실험실 기법을 훈련받은 전문가가 실험실 환경에서 사용하기 위한 것입니다. Neogen은 식품 또는 음료 이외의 산업에서의 본 제품의 사용에 대해 문서화한 바가 없습니다. 예를 들어, Neogen은 제약, 화장품, 임상 또는 수의학 샘플을 테스트하기 위해 본 제품에 대해 문서화한 바가 없습니다. Neogen Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now는 모든 가능한 식품 공정 환경이나 모든 가능한 리스테리아 균주에 대해 평가된 것은 아닙니다. Neogen은 해당 방법이 사용자의 기준을 충족하는지 보장하기 위해서 특정 환경 조건에서 충분한 수의 샘플을 사용하여 방법을 평가하는 것을 권장합니다.

해당 방법을 시행하거나 방법을 검증하는 과정에서 사용자 환경 내 분석법의 완건성을 입증하기 위해, Neogen® Right Now™ Matrix Control (RNMC96)을 함께 사용합니다.

Neogen® 분자 검출기는 분석 용해 단계에서 열처리를 거친 샘플에 사용하기 위한 것입니다. 이 열처리는 샘플 내 미생물의 세포를 용해하여 핵산을 방출시키는 과정입니다. 분석 용해 단계 동안에 충분히 열처리되지 않은 샘플은 잠재적인 생물학적 위험이 있는 것으로 간주될 수 있으며 Neogen 분자 검출 기기에 삽입해서는 안 됩니다.

Neogen Food Safety는 설계 및 제조에 대해 ISO (International Organization for Standardization 국제표준화기구) 9001 인증을 받았습니다.

Neogen Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now 검사 키트는 표 1에 설명된 바와 같이 총 96회 분량의 시약을 포함하고 있습니다.

표 1. 키트 구성 요소

항목	식별	수량	내용물	비고
Right Now™ 샘플러	폴리우레탄 샘플러가 있는 파란색 캡이 있는 튜브	샘플러 96개	1.5 mL의 채취 용액으로 적신 샘플러	즉시 사용 가능
Right Now™ 용해 시약 재현탁 버퍼	투명 플라스틱 병	2병 (각 병으로 용해 버퍼 시약 2병 재구성)	재현탁 버퍼	즉시 사용 가능
Right Now™ 용해 버퍼 시약	투명 유리병	4병 (재구성 시, 각 병당 용해 튜브 28개 분량)	용해 시약	동결건조
용해 (LS) 튜브	투명 클러스터 튜브	96개 (8개 튜브로 구성된 스트립 12개)	비어 있음	랙에 거치되어 있으며 즉시 사용 가능
Listeria Right Now™ 시약 튜브	파란색 펠릿이 담긴 투명 튜브	96개 (튜브 8개로 구성된 스트립 4개가 포함된 파우치 3개)	동결건조된 특정 증폭 및 검출 혼합물	즉시 사용 가능
여분 캡	투명 캡	96개 (8개 캡으로 구성된 12줄)		즉시 사용 가능
Right Now™ 시약 대조군 (RC)	뚜껑을 밀어 올려서 여는 투명한 튜브	16개 (개별 튜브 8개가 들어 있는 파우치 2개)	동결 건조된 대조군 핵산, 증폭 및 검출 혼합물	즉시 사용 가능

안전

사용자는 Neogen 분자 검출 시스템 및 Neogen Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now를 위한 지침에 있는 모든 안전 정보를 읽고, 이해하고, 따라야 합니다. 나중에 참조할 수 있도록 안전 지침을 보관하십시오.

⚠ **경고:**	피하지 않을 경우 사망이나 중상 및/또는 재산 피해를 초래할 수 있는 위험한 상황을 나타냅니다.
⚠ **주의:**	피하지 않을 경우, 경도 또는 중등도의 상해를 초래할 수 있는 위험한 상황을 나타냅니다.

⚠
경고

사람이나 동물에서 발병한 리스테리아증의 임상 진단에 Neogen Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now™를 사용하지 마십시오.

사용자는 현재 적절한 테스트 기술에 대해 직원을 훈련시켜야 합니다. 예: Good Laboratory Practices[1], ISO 7218:2024[2], 또는 CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)[3].

Neogen Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now는 오염된 표면의 샘플 채취나 식품 매트릭스 검사용으로 설계된 것이 아닙니다.

오염된 표면의 사용으로 이어질 수 있는 위음성 결과와 관련된 위험을 줄이기 위해 다음 사항을 준수하십시오:

- 프로토콜을 따르고 테스트를 제품 지침에 명시된 대로 정확하게 수행하십시오.
- 테스트를 수행하는 동안 샘플과 시약을 취급할 때 항상 우수실험실관리기준을 준수해야 합니다.
- Neogen Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now를 포장 및 제품 지침에 표시된 대로 보관해야 합니다.
- Neogen Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now를 항상 유효 기간 내에 사용해야 합니다.
- 항상 키트에 포함된 샘플러를 사용해야 합니다. 다른 출처의 샘플러는 사용하지 마십시오.
- Right Now 샘플러는 일회용입니다.
- 시약 펠릿 재수화가 시작되면 테스트를 중단하지 마십시오.
- 여성 실험실 직원에게는 *Listeria monocytogenes*에 노출되어 감염될 경우, 임신 중 태아에 미칠 수 있는 위험에 대해 충분히 안내할 것을 강력히 권장합니다.

화학물질 및 생물학적 위험물질에 대한 노출과 관련된 위험을 줄이기 위해:

- 교육을 받은 직원의 통제 하에 적절한 장비를 갖춘 실험실에서 병원균 테스트를 수행합니다.
- 샘플 채취 후에는 식품 접촉 표면을 깨끗이 닦아 남아 있는 면봉 용액을 제거해야 합니다.

분석을 준비하는 동안 교차오염과 관련된 위험을 피하기 위해:

- 항상 장갑을 착용하십시오 (사용자를 보호하고 뉴클레아제 유입을 방지하기 위함).

환경 오염과 관련된 위험을 줄이기 위해:

- 폐기 요건과 관련된 해당 지역 및 국가 규정을 준수하십시오.

주의

뜨거운 액체에 대한 노출과 관련된 위험을 줄이기 위해:

- 히터에 설정된 권장 온도를 초과하지 마십시오.
- 권장 가열 시간을 초과하지 마십시오.
- Neogen® 분자 검출 가열 블록 인서트 온도를 검증하기 위해 적절하고 보정된 온도계를 사용하십시오 (예를 들어 담금선이 있는 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 담금선이 없는 온도계는 아님). 온도계는 NEOGEN 분자 검출 가열 블록 인서트의 지정된 위치에 위치해야 합니다.

분석을 준비하는 동안 교차오염과 관련된 위험을 피하기 위해:

- 시약 펠릿 수화 전에 장갑을 교체하십시오.
- 긴 팁의 멸균 처리된 에어로졸 차단형 (필터 포함) 분자생물학 등급의 피펫 팁 사용을 권장합니다.
- 각 샘플 전달마다 새 피펫 팁을 사용하십시오.
- 샘플을 용해 튜브로 옮길 때 우수실험실관리기준을 준수해야 합니다. 샘플 간 교차 오염을 방지하기 위해, 사용자는 피펫 축을 10% 표백제로 닦은 후 깨끗한 종이 타월로 닦거나 길이가 긴 피펫 팁을 사용할 수 있습니다.
- 가능한 경우 살균 램프가 포함된 분자 생물학 워크스테이션을 사용하십시오. 정기적으로 실험실 벤치 및 장비 (피펫, 캡/디캡 도구, 시약 튜브 랙등)의 오염을 1–5% (물에 대한 부피 백분율) 가정용 표백제 용액 또는 RNA 제거 용액으로 제거하십시오.
- 정기적으로 실험대 및 장비(피펫, 캡/디캡 툴, 시약 튜브 랙 등)의 오염을 1~5%(v:v 물) 염소 기반 가정용 표백제 용액 또는 핵산 제거 용액으로 제거하십시오.

위양성 결과와 관련된 위험을 줄이기 위해:

- 증폭 후에는 시약 튜브를 절대 열지 마십시오.
- 오염된 튜브는 항상 1-5%(v:v 물) 염소 기반 가정용 표백제 용액(차아염소산나트륨 포함)에 1시간 동안 담가 놓았다가 분석 준비 영역으로부터 떨어진 곳에 폐기하십시오.
- 증폭 후 절대 시약 튜브를 고온 멸균하지 마십시오.

추가 정보는 물질안전보건자료를 참고하고 폐기는 지역, 주, 국가 규정을 참고하십시오.

특정 용도 또는 절차에 대한 질문이 있으면, neogen.com 웹사이트를 참조하거나 지역 Neogen 담당자 또는 공인 대리점에 문의하십시오.

사용자 책임 사항

사용자는 제품 지침 및 정보를 숙지할 책임이 있습니다. 자세한 내용은 neogen.com 웹사이트를 참조하거나 지역 Neogen 담당자 또는 공인 대리점에 문의하십시오.

검사 방법을 선택할 때는 샘플 채취 방법, 검사 프로토콜, 샘플 준비, 취급, 실험실 기술 및 샘플 자체와 같은 외부적 요인이 결과에 영향을 미칠 수 있음을 인지하고 있어야 합니다.

선택한 테스트 방법이 사용자의 기준을 충족하여 사용자를 만족시키도록 적절한 매트릭스 및 미생물 부하로 충분한 수의 샘플을 평가하기 위해 테스트 방법 또는 제품을 선택하는 것은 사용자의 책임입니다.

또한 모든 테스트 방법과 결과가 고객 및 공급 업체의 요구 사항을 충족하는지 확인하는 것은 사용자의 책임입니다.

모든 테스트 방법과 마찬가지로, 모든 Neogen Food Safety 제품으로부터 획득된 결과는 테스트된 샘플 또는 공정의 품질을 보장하는 것이 아닙니다.

구현 과정에서 고객이 해당 방법의 목적 적합성을 평가할 수 있도록 Neogen은 Neogen® Molecular Detection–Right Now Matrix Control 키트(ISO 24914:2026[4]에서는 amplification control라고도 함)를 개발했습니다. Right Now Matrix Control(RNMC96)을 사용하여 유효성 확인 및 검증 과정에서 Neogen Molecular Detection Assay – Listeria Right Now 결과에 미치는 매트릭스 간섭을 평가하십시오. 시험법 성능을 검증하고 실험실 내 적용 범위를 정의할 때 필요한 대표성 있는 시료 수를 결정하기 위해 ISO 16140-3:2021[5] 표준 및/또는 조직의 품질보증 프로그램을 따르십시오. 시험법이 검증되고 실험실의 적용 범위가 확립되면 Right Now Matrix Control의 정기적인 사용은 필요하지 않습니다. Neogen Right Now Matrix Control의 필요성과 정기 검사 중 사용 빈도를 사례별로 판단하기 위해 조직의 품질 보증 프로그램을 따르십시오.

보증의 제한 / 제한적 구제

개별 제품 포장의 제한된 보증 섹션에 명백하게 명시된 것을 제외하고, Neogen은 상품성 보증 또는 특정 사용에 대한 적합성을 포함하되 그에 국한되지 않고 모든 명시적 및 묵시적 보증을 거부합니다. Neogen Food Safety 제품에 결함이 있는 경우 Neogen 또는 공인 대리점은 재량에 따라 해당 제품을 교체하거나 구매 금액을 환불해 드립니다. 이러한 것들은 귀하의 배타적 구제수단입니다. 귀하는 제품에서 의심되는 결함을 발견한 날로부터 60일 이내에 Neogen에 즉시 통지하고 Neogen에 해당 제품을 반환해야 합니다. 추가 질문이 있으시면 Neogen Food Safety 담당자 또는 Neogen 공인 대리점에 문의하십시오.

Neogen 법적 책임의 한계

NEOGEN은 이익 손실을 포함하되 그에 국한되지 않는 직접, 간접, 특별, 우발 또는 중대한 손해에 관계없이 모든 손실 또는 손해에 대해 책임이 없습니다. 어떠한 경우에도 법적 이론에 따른 Neogen의 책임은 결함이 있다고 주장되는 제품의 구매 가격을 초과하지 않습니다.

Neogen의 전체 이용 약관은 다음 웹사이트에서 확인하십시오: neogen.com/en/terms-and-conditions/

보관 및 폐기

Neogen® Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now를 2-8°C에 보관하십시오. 얼리지 마십시오. 보관하는 동안 키트에 빛이 닿지 않게 하십시오.

키트를 개봉한 후 호일 파우치, 플라스틱 및 유리병이 손상되지 않았는지 확인하십시오. 키트 내용물이 손상된 경우 사용하지 마십시오.

개봉 후 사용하지 않은 시약 튜브는 동결건조된 시약의 안정성을 유지하기 위해 항상 건조제가 들어 있는 재밀봉 가능한 파우치에 보관해야 합니다. 재밀봉된 파우치는 2–8°C에서 60일이 넘지 않도록 보관하십시오.

사용 후에는 Right Now™ 용해 시약 재현탁 버퍼의 캡을 다시 단단히 닫으십시오.

재현탁한 Right™ Now 용해 버퍼 시약은 2-8°C에서 최대 21일 동안 보관할 수 있습니다.

필요한 경우, 용해 버퍼 시약의 캡을 Parafilm®으로 추가로 밀봉할 수 있습니다.

유효 기간이 경과한 Neogen® Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now는 사용하지 마십시오. 유효 기간과 로트 번호는 상자의 외부 라벨에 표시되어 있습니다.

시험이 완료되면 오염 폐기물의 처리에 관한 해당 지역 및 국가 규정을 준수하십시오. 추가 정보는 물질안전보건자료를 참조하십시오.

검증된 방법에 대한 구체적인 지침

AOAC® *Performance Tested Methods℠* (PTM) 인증서 #042604

본 방법은 AOAC® *Performance Tested Methods℠*(PTM) 인증을 획득했습니다. AOAC Research Institute PTM℠ 프로그램에서 Neogen Molecular Detection Assay *Listeria* Right Now™는 스테인리스강 표면(최대 4인치×4인치)에 존재하는 생균 및 사균 상태의 리스테리아종(*Listeria* spp.)을 검출하는 데 효과적인 방법임이 입증되었습니다.

사용 지침

모든 지침을 주의 깊게 따르십시오. 그렇게 하지 않으면 부정확한 결과가 발생할 수 있습니다.

정기적으로 실험대 및 장비(피펫, 캡/디캡 툴, 시약 튜브 랙 등)의 오염을 1~5%(v:v 물) 염소 기반 가정용 표백제 용액 또는 핵산 제거 용액으로 제거하십시오.

사용자는 “설치 적격성 평가(IQ) / 운전 적격성 평가(OQ) 프로토콜 및 Neogen Molecular Detection System” 문서[6]지침에 설명된 대로, Neogen® Molecular Detection System 운전 적격성 평가(OQ) 훈련을 완료해야 합니다.

1. Right Now™ 샘플러 준비

1.1 Right Now 샘플러 튜브에 샘플 ID를 라벨링합니다.

1.2 Right Now 샘플러 튜브를 두 번 톡톡 쳐서 샘플링 용액이 튜브 바닥으로 내려오게 합니다.

1.3 Right Now 샘플러 튜브를 열고 튜브 벽면에 샘플러를 눌러 여분의 샘플링 용액을 제거합니다.

1.4 무균 상태를 유지하며, 튜브에서 여분의 샘플링 용액을 따라 버립니다.

1.5 Right Now 샘플러를 빈 튜브에 다시 넣습니다.

2. 샘플 채취

2.1. 검사 구역(1 × 1인치에서 12 × 12인치, 2.5 × 2.5cm × 30cm 사이) 전체가 충분히 포함되도록 가로, 세로 및 대각선 방향으로 면봉을 문질러 표면 샘플을 채취합니다. Right Now 샘플러를 반대쪽으로 뒤집어 같은 표면을 다시 문지릅니다.

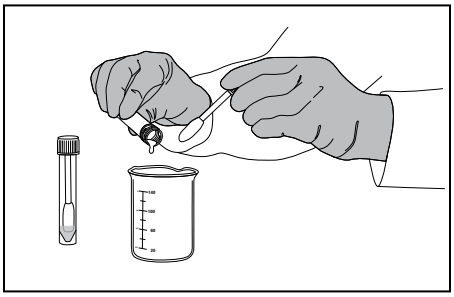
2.2. Right Now 샘플러를 빈 튜브에 다시 넣습니다.

2.3. 즉시 테스트하지 않는 경우 샘플러를 2-8°C에 보관합니다. Right Now 샘플러는 테스트 전에 2-8°C에서 최대 24시간 동안 보관할 수 있습니다. 샘플 보관은 AOAC 유효성 검증 범위에 포함되지 않습니다.

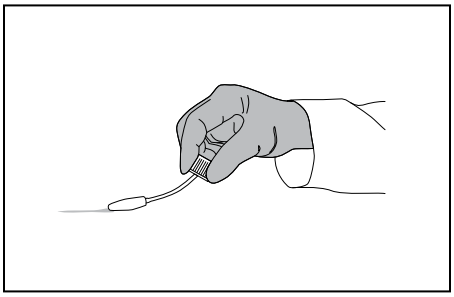
3. Right Now™ 용해 버퍼 시약 (용해 효소) 제조

3.1. 동결건조된 용해효소가 담긴 Right Now™ 용해 버퍼 시약 1병을 Right Now™ 용해 시약 재현탁 버퍼 28 mL로 재구성합니다. 부드럽게 흔들어 혼합합니다. 사용 전에 용해 버퍼를 실온에 놓아 온도를 맞춥니다.

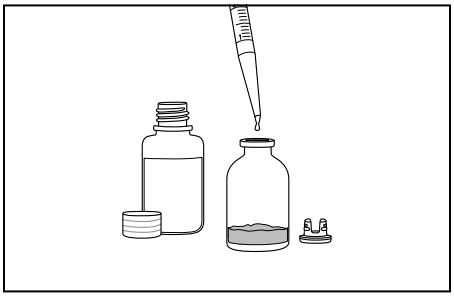
참고: 재수화된 용해 버퍼는 2-8°C에서 21일 동안 보관할 수 있습니다. 바이알에 용해 효소를 제조한 날짜를 기록합니다.



면봉으로 닦기 전에 무균 상태를 유지하며, 튜브에서 여분의 샘플링 용액을 따라 버립니다.



테스트 구역 전체 (1×1인치-12×12인치)를 포함하도록, 표면을 수평, 수직, 대각선 방향으로 면봉으로 문질러 샘플을 채취합니다. Right Now 샘플러를 반대쪽으로 뒤집어 같은 표면을 다시 문지릅니다.



용해 버퍼 시약 (동결건조 용해 효소) 1병에 용해 시약 재현탁 버퍼 28 mL를 넣어 재구성합니다. 부드럽게 흔들어 혼합합니다. 사용 전에 용해 버퍼를 실온에 놓아 온도를 맞춥니다.

장비 준비

4. Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이 준비

4.1 1-5% (물에 대한 부피 백분율) 가정용 표백제 용액으로 천 또는 일회용 타월을 적셔 Neogen 분자 검출 스피드 로더 트레이를 닦습니다.

4.2 Neogen 분자 검출 스피드 로더 트레이를 물로 씻어냅니다.

4.3 Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이를 일회용 타월을 사용하여 닦아 건조시킵니다.

4.4 Neogen 분자 검출 스피드 로더 트레이가 사용 전에 확실히 건조되어 있도록 합니다.

이 절차에는 Neogen Molecular Detection 히팅/칠링 블록 인서트 2개가 필요합니다. 두 인서트는 동일한 제품(700000145)이지만 서로 다른 용도로 사용됩니다.

절차상 명확성을 위해 가열 단계에 사용되는 인서트는 Molecular Detection 히팅 블록 인서트, 냉각 단계에 사용되는 인서트는 Molecular Detection 칠링 블록 인서트라고 지칭합니다. 이러한 명칭은 역할을 구분하기 위한 것일 뿐이며, 별도의 제품을 의미하지는 않습니다.

5. Neogen® 분자 검출 냉각 블록 인서트 준비

5.1 Neogen 분자 검출 냉각 블록 인서트를 실험실 벤치 위에 직접 올려 놓습니다. 블록은 상온의 실험실에서 사용합니다.

6. Neogen® 분자 검출 가열 블록 인서트의 준비

6.1 Neogen 분자 검출 가열 블록 인서트를 건조한 이중 블록 히터 장치에 위치시킵니다. 건조 블록 히터 장치를 켜고 Neogen 분자 검출 가열 블록 인서트가 100 ± 1°C의 온도에 도달하고 유지할 수 있도록 온도를 설정합니다.

참고: 히터 장치에 따라 NEOGEON 분자 검출 가열 블록 인서트가 온도에 도달할 때까지 약 30분 정도 기다립니다. 지정된 위치에 설치된 적절하고 보정된 온도계를 사용하여 (예를 들어 담금선이 있는 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 담금선이 없는 온도계는 아님), Neogen 분자 검출 가열 블록 인서트가 100 ± 1°C인 것을 확인하십시오.

7. Neogen® 분자 검출기의 준비

7.1 Neogen® 분자 검출 소프트웨어를 실행하고 로그인하십시오. 가장 최신 소프트웨어인지 확인하려면 Neogen Food Safety 담당자에게 문의하십시오.

7.2 Neogen 분자 검출기를 켭니다.

7.3 새로운 실행을 만들거나 각 샘플에 대해 웰을 선택하여 실행을 편집합니다. 자세한 내용은 Neogen 분자 검출 시스템 사용 설명서를 참조하십시오.

7.4 *Listeria* Right Now (LRN) 분석의 경우, Neogen 분자 검출 소프트웨어에서 LRN 아이콘을 선택하고 각 웰에 할당합니다.

7.5 음성 대조군 및 시약 대조군에 대해, 각각 실행 내 해당 웰에 LRN NC 아이콘과 LRN RC 아이콘을 할당합니다.

7.6. 각 실행에 대해 LRN NC가 설정되고 키트에 대해 하나의 LRN RC가 설정됩니다.

참고: Neogen 분자 검출기는 반응 튜브가 있는 Neogen 분자 검출 스피드 로더 트레이를 삽입하기 전에 60°C의 온도에 도달하고 유지해야 합니다. 이 가열 단계는 약 20분이 소요되며 기기의 상태 표시줄에 주황색 표시등이 표시됩니다. 기기가 실행을 시작할 준비가 되면 상태 표시줄이 녹색으로 바뀝니다.

8. *Listeria* Right Now™ 분석을 위한 용해

8.1 3.1항에서 준비한 Right Now™ 용해 버퍼 시약 용액 1 mL를 샘플 채취에 사용한 Right Now 샘플러 (섹션 2)로 옮깁니다. Right Now 샘플러 튜브의 내부 벽면을 만지지 마십시오. 용해 버퍼의 오염을 방지하기 위해 샘플마다 팁을 교체합니다.

참고: 사용하지 않은 용해 버퍼는 사용 후 냉장고에 보관합니다 (1시간 이내).

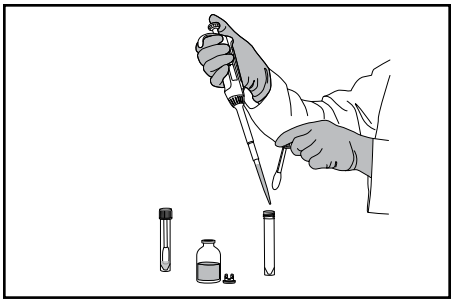
8.2 튜브 캡을 닫습니다. Right Now 샘플러 튜브를 5-10초 동안 강하게 교반하여 Right Now 샘플러의 샘플을 추출합니다.

8.3 빈 랙에 개별 클러스터 튜브를 필요한 수만큼 배치합니다. 테스트할 각 샘플마다 빈 클러스터 튜브가 1개씩 필요합니다. 항상 음성 대조군(Negative Control, NC)을 위해 빈 클러스터 튜브를 추가로 포함합니다.

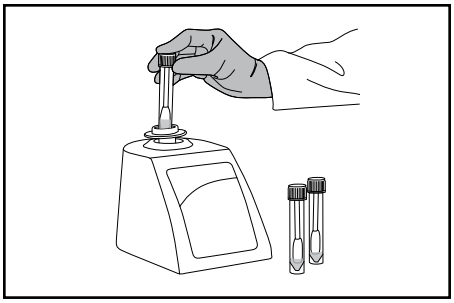
8.4 8.1에서 준비한 튜브에서 Right Now 샘플러를 꺼내어 캡을 아래로 하여 작업대 위에 세워 둡니다. 오염을 방지하기 위해 샘플러를 만지지 마십시오.

8.5 각 Right Now 샘플러 튜브에서 각 샘플 500µL를 빈 클러스터 튜브로 길이가 긴 피펫 팁을 사용하여 옮깁니다. 샘플러를 튜브에 다시 넣고 뚜껑을 단단히 닫습니다.

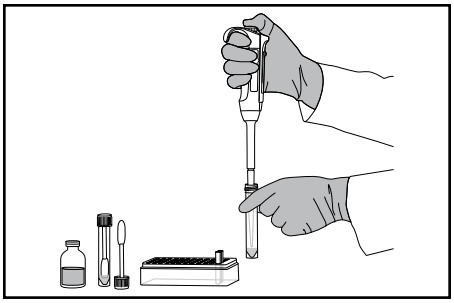
참고: 표준 피펫 팁보다 길이가 긴 피펫 팁을 사용하는 것을 권장합니다. 피펫 축이 Right Now 샘플러 튜브에 닿은 경우, 피펫 팁을 빼낸 다음 1-5% 표백제를 뿌린 타월로 피펫 축을 철저하게 닦아 샘플 간 교차 접촉 오염을 방지합니다.



Right Now™ 용해 버퍼 시약 용액 1 mL를 샘플 채취에 사용되는 Right Now™ 샘플러로 옮깁니다. 샘플러 튜브의 내부 벽면을 만지지 마십시오.



튜브 캡을 닫습니다. 샘플러 튜브를 5-10초 동안 강하게 교반하여 Right Now 샘플러의 샘플을 추출합니다.



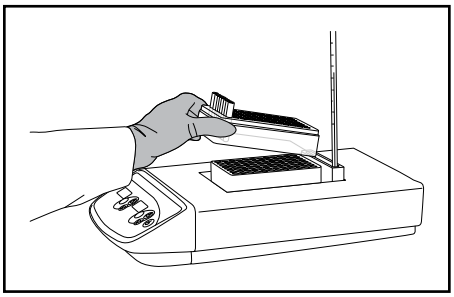
길이가 긴 피펫 팁을 사용하여, 각 샘플러 튜브에서 각 샘플 500µL를 빈 클러스터 튜브로 옮깁니다.

8.6 모든 샘플을 옮긴 후, 빈 클러스터 튜브에 3.1항에서 준비한 용해 버퍼 500µL를 옮겨 음성 대조군 (NC)을 준비합니다. 물을 NC로 사용하지 마십시오.

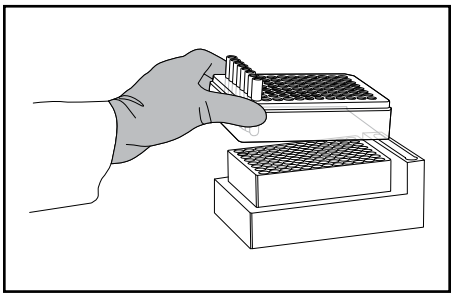
8.7 NEOGEN 분자 검출 가열 블록 인서트의 온도가 100 ± 1°C인지 확인하십시오.

8.8 **가열 단계:** 클러스터 튜브를 랙이 있는 채로 Neogen 분자 검출 가열 블록 인서트에 넣고, 10±1분 동안 가열합니다. 가열 중에 용해액이 혼탁해질 수 있습니다.

8.9 **냉각 단계:** 클러스터 튜브를 랙이 있는 채로 히팅 블록에서 제거하고 Neogen Molecular Detection 칠링 블록 인서트에서 최소 5분에서 최대 60분 동안 식힙니다. 상온에서 사용하는 Neogen 분자 검출 냉각 블록 인서트는 실험대 위에 직접 놓아야 합니다. 냉각 후 용해액이 투명한 상태여야 합니다.



클러스터 튜브를 랙이 있는 채로 Neogen 분자 검출 가열 블록 인서트에 넣고, 10±1분 동안 가열합니다. 가열 중에 용해액이 혼탁해질 수 있습니다.



클러스터 튜브를 랙이 있는 채로 히팅 블록에서 제거하고 Neogen Molecular Detection 칠링 블록 인서트에서 최소 5분에서 최대 60분 동안 식힙니다.

9. 증폭

9.1 각 샘플 및 음성 대조군 (NC)마다 Neogen Molecular Detection Assay – *Listeria* Right Now 시약 튜브가 1개씩 필요합니다.

9.1.1 시약 튜브 스트립은 원하는 튜브 수로 절단할 수 있습니다. 필요한 개별 시약 튜브 또는 8튜브 스트립의 수를 선택합니다.

9.1.2 튜브 바닥의 시약 펠릿을 흩어지지 않도록 하십시오.

9.2 *Listeria* Right Now 시약 대조군 (RC) 튜브 1개를 꺼내어 랙에 놓습니다.

9.3 LRN NC lysate의 경우, *Listeria* Right Now reagent 튜브 한 개를 선택하여 동일한 랙에 놓습니다. 교차 오염을 방지하기 위해 시약 튜브 스트립은 한 번에 하나씩만 뚜껑을 열고, 옮기는 각 단계마다 새로운 피펫 팁을 사용합니다.

9.4 아래에 설명된 대로 용해액을 *Listeria* Right Now 시약 튜브로 옮깁니다.

9.5 Neogen® 분자 검출 캡/디캡 도구-시약을 사용하여 시약 튜브의 캡을 엽니다. 시약 튜브 스트립은 한 번에 하나씩만 열어야 합니다. 캡을 폐기합니다.

9.5.1 클러스터 튜브에서 액체의 상부 ½의 샘플 용해액 50 µL (침전물을 피할 것)를 Neogen *Listeria* Right Now 시약 튜브로 옮깁니다. 펠릿을 흩어지지 않도록 비스듬히 분주합니다. 부드럽게 위아래로 5회 피펫팅하여 혼합하십시오.

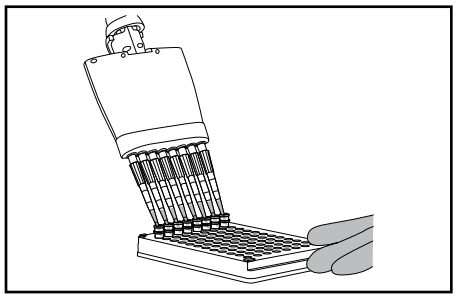
9.5.2 모든 개별 샘플 용해액이 스트립 내 시약 튜브에 추가될 때까지 9.5.1 단계를 반복합니다.

9.5.3 시약 튜브를 제공된 여분의 캡으로 덮고 Neogen 분자 검출 캡/디캡 도구-시약의 둥근 면을 사용하여 앞뒤로 움직이면서 압력을 가하여 캡이 단단히 밀착되도록 합니다.

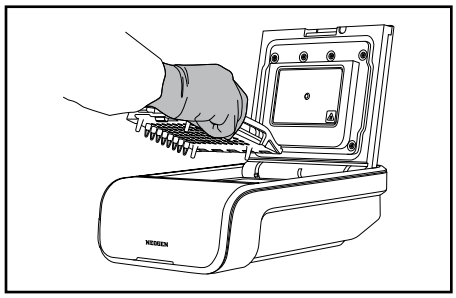
9.5.4 테스트할 샘플의 수에 따라 9.5.1 단계에서 9.5.3 단계까지 필요한 만큼 반복합니다.

9.5.5 모든 샘플 용해액을 옮긴 후, NC 용해액 50µL를 *Listeria* Right Now 시약 튜브 1개에 옮깁니다. 부드럽게 위아래로 5회 피펫팅하여 혼합합니다.

9.5.6 마지막으로, 50µL의 NC 용해액을 Right Now™ 시약 대조군(RC)으로 옮깁니다. 부드럽게 위아래로 5회 피펫팅하여 혼합합니다.



클러스터 튜브의 상부 ½의 샘플 용해물 50µL를 LRN 시약 튜브 안으로 옮깁니다. 펠릿이 흩어지지 않도록 비스듬히 분주합니다. 부드럽게 위아래로 5회 피펫팅하여 혼합하십시오.



캡이 있는 튜브를 깨끗하고 오염이 제거된 Neogen 분자 검출 스피드 삭제 로더 트레이에 넣습니다. 닫고 Neogen 분자 검출기에 놓습니다. 덮개를 닫고 분석을 뒤에 마침표.

9.6 캡이 있는 튜브를 깨끗하고 오염이 제거된 Neogen 분자 검출 스피드 로더 트레이에 넣습니다. Neogen 분자 검출 스피드 로더 트레이 뚜껑을 닫고 잠급니다.

9.7 Neogen Molecular Detection System 소프트웨어에서 설정된 런을 검토하고 확인하십시오.

9.8 소프트웨어에서 시작 버튼을 클릭하고 사용할 기기를 선택합니다. 선택한 기기의 뚜껑은 자동으로 개봉됩니다.

9.9 Neogen 분자 검출 스피드 로더 트레이를 Neogen 분자 검출기에 넣고 뚜껑을 닫아 분석을 시작합니다. 결과는 45분 이내에 제공되지만 양성이 더 빨리 감지될 수 있습니다.

9.10 분석이 완료된 후, Neogen Molecular Detection 스피드 로더 트레이를 Neogen Molecular Detection 장비에서 제거하고 시약 튜브는 항상 1–5%(v:v 물) 염소 기반 가정용 표백제 용액에 1시간 동안 담가 놓았다가 분석 준비 영역으로부터 떨어진 곳에 폐기합니다.

참고: 교차 오염으로 인한 위양성 위험을 최소화하려면 증폭된 DNA가 들어 있는 시약 튜브를 절대 열지 마십시오. 밀봉된 시약 튜브는 항상 1~5%(물에 대한 부피 백분율) 염소 기반 가정용 표백제 용액에 1시간 동안 담가 놓았다가 분석 준비 지역으로부터 떨어진 곳에 폐기하십시오.

결과 및 해석

알고리즘은 핵산 증폭 검출로 인한 광출력 곡선을 해석합니다. 결과는 소프트웨어에 의해 자동으로 분석되며 결과에 따라 색상으로 구분됩니다. 양성 또는 음성 결과는 여러 고유 곡선 매개변수의 분석에 의해 결정됩니다. 양성 결과는 실시간으로 보고되는 반면 음성 결과는 실행이 완료된 후 표시됩니다.

참고: 시스템 및 Neogen Molecular Detection Assay - *Listeria* Right Now 증폭 시약이 "배경" 상대적 발광 단위 (RLU) 판독값을 가지기 때문에 유효하지 않은 샘플이라 하더라도 0의 판독값이 나오지는 않을 것입니다.

표 2: Neogen 분자 검출 소프트웨어에서 제공하는 샘플 및 해석에 대한 결과 기호마침표 삭제

웰 유형	웰 결과 기호	결과	해석
샘플		양성	샘플이 *Listeria* spp. 양성입니다.
샘플		음성	샘플이 *Listeria* spp. 음성입니다.
샘플		억제됨	이 샘플 매트릭스는 분석에 대해 억제되었습니다. 재검사가 필요할 수 있습니다.
샘플		오류	생체발광은 검출되지 않았습니다. 재검사가 필요할 수 있습니다.

*결과에 대한 추가 정보는 런 보고서를 참조하십시오. 필요한 경우, 현재 Neogen 담당자에게 연락하여 문제 해결에 도움을 받으십시오.

확정

이 방법으로 얻은 추정 양성 결과는 확정할 수 없습니다. 최종 사용자가 적절한 세척 프로토콜을 실시하고 재검사를 실시할 수 있습니다. 또는 단일 집락(isolated colony)이 필요한 경우에는, 해당 시험 부위를 다시 채취(reswab)하여 FDA BAM Chapter 10[7]장 또는 ISO 11290-1[8]에 명시된 배양 절차에 따라 시험을 수행하십시오.

참고 문헌

1.U.S. Food and Drug Administration.Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.

2.NF EN ISO 7218:2024. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.

3.CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMLB) 6th Edition.Effective Date:29 August 2025

4.ISO 24914:2026 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms and associated genetic markers — General requirements and definitions.International Standard Organization (ISO), Geneva, Switzerland. www.iso.org

5.ISO 16140-3:2021 Microbiology of the food chain — Method validation Part 3:Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory

6.Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.

7.Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 10:Detection of Listeria monocytogenes in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods (April 22)

8. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp.- Part 1:Detection method, https://www.iso.org/standard/60313.html

기호 설명

www.neogen.com/foodsafety/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
Auchincruive House
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland