

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

MicroSnap Total / Összcóra

Gyorsteszt összcsíraszám kimutatására

Cikkszám: Dúsító eszköz (Step 1. Enrichment device) MS1-TOTAL

Detektáló eszköz (Step 2. Detection device) MS2-TOTAL

Használati utasítás/javasolt felhasználás:

A MicroSnap Total egy biolumineszcencián alapuló gyors eljárás összes baktériumszám kimutatására és megszámlálására. Egy mintából 7 óra alatt ad eredményt. A MicroSnap TOTAL egy szabadalmaztatott táptalajt tartalmazó dúsító mintavevő tamponból (Enrichment Swab Device) és a bioluminogén reagenst tartalmazó mérőeszközből (Detection Device) áll, amely a baktérium által termelt biomarkereket képes mérni egy kis hordozható luminométerrel (EnSure luminométer).

A két lépéses eljárás megkövetel egy rövid inkubációs szakaszt, ami a baktériumok növekedését könnyíti meg, majd egy második lépést a megszámlálásra. Az inkubálás alatt a táptalajban a baktériumok száma növekszik és a lehetséges zavaró hatások csökkennek. A baktériumok a táptalajban lévő tápanyagokat használják fel és így biomarkereket termelnek. Minél nagyobb a baktériumok száma a mintában, annál magasabb a biomarker koncentráció és annál nagyobb a kibocsájtott fény. A dúsított mintaoldat egy részét tegyük át a mérőeszközbe (Detection Device), aktiváljuk, keverjük össze és mérjük meg a luminométerrel. A fénykibocsájtás egyenesen arányos a jelen lévő baktériumok koncentrációjával.

A MicroSnap Total tesztet alapvető mikrobiológiai laborgyakorlattal rendelkező személyzet is elvégezheti.

Alkalmazhatóság:

A MicroSnap Total felhasználható aktív anyagcseréjű aerob baktériumok számának meghatározására élelmiszerekből, folyadékokból és felületekről. A módszer az AOAC PTM programján keresztül validált. különféle élelmiszerekre. Részletekért lásd AOAC-RI PTM Certificate #031501.

Korlátozások:

A MicroSnap Total módszere elsődlegesen az ATP mérésén alapul. A MicroSnap Totalt minden lehetséges élelmiszer mátrixal nem vizsgálták végig. Lásd a Felhasználói felelősség részt. Nagyon fontos, hogy a minták szobahőmérsékletűek legyenek az eszköz használatakor (18 – 25 °C). A hűtőből éppen kivett (4°C-os) minták esetében, alámérés történik, mivel a minta később éri el a 30°C-os inkubálási hőmérsékletet. Fontos, hogy a teszthez használt tápközegek és hígítók mentesek legyenek biolumineszcencia gátló anyagoktól. A tápközegekben és hígítókban előforduló gátlóanyagok a hibás mérések elsődleges okai. A Hygiene az alábbi hígítók használatát javasolja.

Szükséges anyagok (nem mellékeltek):

- Inkubátor: 30°C ±0.5°C
- EnSURE luminométer

Termékmintákhoz:

- Hígítók, pl.:
 - pufferolt peptonvíz
 - maximális helyreállított oldószer
 - butterfield oldószer
 - más validált oldószerek
- Mintatasak
- Homogenizátor
- Pipetta és pipettahegy 1 ml adagolására

Felhasználási utasítás:

Videó: www.youtube.com/HygienaTV

1. lépés: Dúsítás

Dúsító eljárást az alábbiakban írjuk le, és látható később az 1. ábrán.

1. Gyűjtse be a mintát és helyezze bele a MicroSnap TOTAL dúsító csőbe (Step 1. Enrichment device). A következő minták esetében:

1.1 Felület: Reprezentatív minta mintavevő tamponnal egy 10x10cm-es, négyzetes felületről vagy szabálytalan felület esetén, akkora felületről, ami körülbelül ennek felel meg.

1.2 Folyadék: 1 ml folyékony élelmiszer, ital vagy vízminta; adjuk közvetlenül a dúsító eszközhöz.

1.3. Termék: 1 ml-nek megfelelő szuszpenzió, pl. 10%-os (tömeg/térfogat) homogenizált szuszpenzió a termékből; adjuk a dúsító eszközhöz közvetlenül. A szokásos mikrobiológiai eljárásokkal kell előkészíteni a (10g minta + 90 ml hígítófolyadékot vagy 50 g minta + 450 g hígítófolyadék elegyet. *Megjegyzés: az AOAC PTR tanulmányban Maximum Recovery Diluent-et használtak*). Ismeretlen minta esetén, 10%-os hígítás alatt kell a szennyeződést tesztelni (10 ml 10%-os minta 90 ml friss hígítóba és ezt ismételve 1%-ig és 0.1%-ig)

Megjegyzés: amikor összehasonlító vizsgálatot végzünk, a mintavizsgálatokat 10 percn belül indítsuk el, hogy a módszerek összehasonlíthatósága megfelelő legyen. A levett mintákat használat előtt 4°C-on 2 napig is el lehet tárolni, de vizsgálat előtt hagyni kell, hogy szobahőmérsékletre melegedjen.

2. Helyezze vissza a tampont a csőbe. Az eszköz most pont úgy néz ki, mint amikor először kezébe vette.

3. Az eszköz aktiválásához tartsuk erősen a kezünkben, hüvelyk- és mutatóujjunk segítségével törjük meg a Snap szelepet, így toljuk előre majd hátra a reagenst tartalmazó tartályt.

4. Húzza szét egy-két centire a tartályt (mintavevőt) és a csövet, a belső nyomás enyhítésére, és nyomja meg a tartályt, hogy az összes táptalaj a cső aljába kerüljön. Győződjön meg róla, hogy az összes táptalaj a cső alján van.

5. Helyezze vissza a mintavevőt és jól zárja le a csövet.

6. Óvatosan rázza össze, hogy a minta jól összekeveredjen a táptalajjal.

7. Inkubálja a mintát 30±0,5°C-on 7 óra ±10 percn át (Lásd a 2-4. táblázatokat).

2. lépés: Mérés

Az alábbiakban a mérési eljárást ismertetjük és lentebb a 2. ábra mutatja is. Mielőtt elkezdi a 2. lépést kapcsolja be az EnSURE luminométert. Ha a helyszín be van programozva, akkor válassza ki a megfelelő programot.

1. Hagyja, hogy a MicroSnap TOTAL Detektáló eszköz (MS2-Total 2. Step Detection Device) szobahőmérsékletre melegedjen (10 perc 22-26°C-on). Ütögessük az teszttet 5-ször a tenyerünkhöz, vagy rázzuk erőteljesen lefelé, hogy az extraháló folyadék a cső aljába jusson.

2. Helyezzen át a dúsított mintát a dúsító eszökből (Step 1. Enrichment Device) a mérőeszökbé (2. Step

Detection Device). A dúsító eszköz használható pipettaként is.

2.1 Nyomja össze a tartályt, engedje el, így keverve meg a mintát, majd a tartályba szívja fel a mintát.

2.2 Vegye ki a dúsító tampon a csőből.

2.3 Vegye ki a mérőeszközből a tartályt (Step 2. Detection Device), csavarva és húzva. Tegye félre.

a. A dúsító tamponban lévő mintát a mérőeszköz csövének tetején keresztül (szélétől körülbelül 3 cm-re) juttatjuk be, a tartályt enyhén megnyomva a dúsított minta belecsorog a csőbe. A mérőeszköz alján lévő jelzésig kell tölteni. Próbálja meg elkerülni a túltöltést, mert az befolyásolhatja az eredményt.

2.4. A megmaradt dúsított minta a dúsító csőben maradhat további vizsgálatok elvégzése céljából. Szerelje össze a dúsító eszközt és tegye vissza az inkubátorba. *Megjegyzés: ha megismételjük a tesztet ugyanazon dúsított mintából, az ismétléseket 10 percen belül végezzük el az eredmények összehasonlíthatósága miatt.*

2.5. Helyezze vissza a mérőeszközt a csőbe.

3. Az eszköz aktiválásához tartsuk azt erősen a kezünkben, hüvelyk- és mutatóujjunk segítségével törjük meg a Snap szelepet, így toljuk előre majd hátra a reagenst tartalmazó tartályt. Nyomja meg háromszor a tartályt, hogy a folyadék a cső aljába kerüljön.

4. Rázza meg óvatosan, hogy összekeveredjen.

5. Azonnal tegye be az egész eszközt a luminométerbe, zárja be a fedelet és tartsa függőlegesen a műszert, nyomja meg az „OK” gombot, hogy elinduljon a mérés. Az eredmény 15 másodperc múlva megjelenik.

6. Az eredmény RLU (Relatív Fény Egység) értékben fog megjelenni. Állítsa be úgy a CFU értékeket az eszközön, hogy az megfeleljen az előírásoknak. Lásd „Eredmények kiértékelése” pontban az összefüggést.

MicroSnap Total / Összcóra

Gyorsteszt összcsóraszám kimutatására

Cikkszám: Dúsító eszköz (Step 1. Enrichment device) MS-E-TOTAL (25 teszt)

Detektáló eszköz (Step 2. Detection device) MS-TOTAL (25 teszt)

Kimutatási határ

A kimutatási határ az a legkisebb mennyiségű aerob bakterium, ami kimutatható egy élelmiszer mátrixból, amikor a tesztet helyesen és hatékonyan végzik el. A legkisebb kimutatható baktériumszám az inkubálási idő növekedésével csökken. 7 órás inkubálás esetén a nagyságrendileg 10 CFU/ml mutatható ki a dúsító mintából, míg 8 órás inkubálás esetén ez 1 CFU/ml-re csökken. Ez az egyenlet a Baranyi-Roberts féle élelmiszerekben történő baktérium növekedési modellel van összhangban. 7órás inkubálás esetén a CFU – RLU összefüggés közel $1 - 1$ vagy másképp $Y=X$. A 10 RLU-s alsó határ (<10 CFU 7 órás inkubálásnál) a steril élelmiszerekkel végzett vizsgálatok eredményein alapszik (átlagos RLU érték plusz 6 RLU szórás).

1. táblázat: Tartományok (Kimutatási határ) 7 órás inkubálás

| Minta típusa | CFU tartomány |
|---|----------------------|
| Felület | 10-10 000 CFU/tampon |
| 1 ml folyadék | 10-10 000 CFU/ml |
| szilárd: 10% tömeg%-os oldat (tömeg/térfogat) | 100-50 000 (CFU/g)* |

*Azon minták esetében, amelyeknél a szennyeződés mértéke kívül esik a tartományon, sorozatos hígításokat kell elvégezni, hogy a luminométer olvasni tudja:

- 1%-os szuszpenzió 1000-500 000 CFU között

- 0,1%-os szuszpenzió 10 000- 5 000 000 CFU között

Megjegyzés: amikor egy időben több hígítási sort alkalmazunk, akkor minden hígítást el kell készíteni és egy időben elvégezni a méréseket.

AOAC PTM Validáció

2. Táblázat: AOAC PTM Validáció különböző élelmiszer mátrixokra

Összefüggés az ISO módszerrel

| Élelmiszer mátrix | Korreláció az ISO szabványhoz (R ²) |
|------------------------|---|
| Nyers, darált marhahús | 0,771 |
| Nyers csirkehús | 0,969 |
| Saláta | 0,948 |
| Krémes torta | 0,987 |
| Nyers tej | 0,990 |

Az élelmiszer mátrixokat természetes állapotukban vizsgálták; baktérium spikolás nem történt, mivel az összes minta tartalmazott számolható mennyiségű baktériumot. Így valódi negatív élelmiszermintát nehéz vizsgálni. Ezek alapján 7 órás inkubálás esetén a mintára vonatkozó 100 CFU/g alsó kimutatási határ elfogadható.

A módszer jól korrelál az ISO referencia módszerrel, (ISO 4833:2003 Microbiology of food and feeding dtuff – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30 °C)

Eredmények kiértékelése:

Az eredmények Relatív Fény Egység (RLU) mértékegységben jelennek meg. Az RLU érték arányos a kiindulási és az annak megfelelő baktérium számmal (CFU-ban kifejezve). A 3. táblázat mutatja az egyenértékű CFU értékeket az RLU értékekhez (7 órás inkubáció 30°C-on). Amennyiben hígítási sort készít a mintából, mert ismeretlen a mintában a szennyeződés mennyisége, akkor aCFU/g vagy ml értéket úgy kell kiszámolni, hogy a hígítási faktoralal szorozzuk az RLU értéket.

3. táblázat: Összefüggés RLU és CFU értékek között 7 óra inkubálás után.

| EnSURE RLU | Egyenértékű CFU | |
|------------|--|----------------------------------|
| | közvetlen minta, pl. felületi tampon vagy 1ml folyadék | 10% szuszpenzió szilárd mintából |
| <10 | <10/ml | <100/g |
| <20 | <20/ml | <200/g |
| <30 | <30/ml | <300/g |
| <50 | <50/ml | <500/g |
| <100 | <100/ml | <1000/g |
| <1000 | <1000/ml | <1000/g |
| >5000 | TNTC | TNTC |

TNTC – nem megszámlálható

Kalibrálás ellenőrzés:

Célszerű egy pozitív és egy negatív kontroll tesztet futtatni a Jó Laboratóriumi Gyakorlatnak megfelelően. A

Hygiena a következőt ajánlja:

- Kalibrációs kontroll készlet (Cikkszám: PCD4000)

Tárolás és eltarthatóság:

- Tárolás 2-8°C között.
- Az eszközök minőség megőrzési ideje 12 hónap.
- Mindig ellenőrizze a minőség megőrzési időt a jelölésen.

Ártalmatlanítás:

Kidobás előtt fertőtlenítse! A MicroSnap eszközöket fertőtlenítheti autoklávban vagy áztatással 20%-os fertőtlenítő oldatban 1 órán át. Csak ezután lehet kidobni a tesztet a hulladékba. Esetleg a MicroSnap eszközöket egy biológiai hulladék ártalmatlanító berendezésbe is helyezhető.

Biztonsági tájékoztató és óvintézkedések:

1. A MicroSnap tesztek komponensei nem jelentenek veszélyt az egészségre, amennyiben az általános laboratóriumi gyakorlat és ezen leírás szerint használják. Amennyiben a felhasznált tesztek pozitívak, akkor biológiai veszélyt jelentenek, így biztonságosan meg kell semmisíteni a Jó Laboratóriumi Gyakorlatban leírtaknak és egészségügyi és biztonsági előírásoknak megfelelően. A mérőeszközt egyszeri használatra tervezték. Ne használja újra.
 2. Ne használja a lejáratú idő után.
 3. A mintavételt sterilen kell elvégezni a keresztszennyeződés elkerülése érdekében.
 4. Biztosítsa a megfelelő hígítást, hogy a luminométer által detektálható tartományban legyen az eredmény. (Lásd 1. táblázat).
 5. Biztosítsa a megfelelő inkubációs hőmérsékletet és időt a teszt alkalmazása során.
 6. Amennyiben többszörös hígítási sorral dolgozik, minden hígítási előkészítést és mérést párhuzamosan végezzen, hogy az adatok linearitását biztosítsa.
 7. Ha megismétli a tesztet ugyanazon dúsított mintából, minden ismétlést 10 percen belül végezzen el az eredmények összehasonlíthatósága miatt.
 8. Amikor összehasonlító vizsgálatot végzünk, a mintavizsgálatokat 10 percen belül indítsuk el, hogy a módszerek összehasonlíthatósága jó legyen.
- További biztonsági utasításokért tanulmányozza a termék biztonsági adatlapját (MSDS).

Felhasználó felelőssége

- A MicroSanp tesztek nem vizsgálták az összes létező élelmiszereken, élelmiszeripari folyamaton, vizsgálati módszeren, vagy az összes lehetséges bakteriumtörzsszel.
- Ne használja a tesztek emberi vagy állati betegségek diagnosztizálására.
- Egy tápközeg nem helyettesíthető teljes egészében egy másfajta tápközeggel egy baktériumtörzs visszanyerésére vagy egy specifikus törzs szaporítására. Egyéb külső faktorok, mint a mintavétel, a vizsgálati eljárás és kezelés mind hatással vannak a visszanyerésre.
- A szükséges mintaszám meghatározása a felhasználó felelőssége.
- A személyzetet a helyes vizsgálati technikára megfelelően ki kell oktatni.

Hygiena felelősség

Mint minden táptalaj, a MicroSnap TOTAL eredmények sem jelentenek teljes garanciát a teszttel elvégzett vizsgálatokra élelmiszerek, italok vagy folyamatok minőségére vonatkozóan. A Hygiena nem vállal felelősséget a felhasználó vagy mások által, közvetlenül vagy közvetetten, okozott veszteségért vagy károkért, a készülék használata során véletlenül vagy következményesen. Ha a termék bizonyítottan hibás, akkor a Hygiena egyedüli kötelezettsége, hogy kicserélje az eszközt vagy visszatérítse annak vételárát.

Haladéktalanul értesítse a Hygiene képviselőjét, lehetőség szerint felfedezéstől számított 5 napon belül, amennyiben bármilyen hibát észlel az eszközökben és juttassa vissza a terméket a gyártónak (forgalmazónak).

MicroSnap Total / Összcsíra

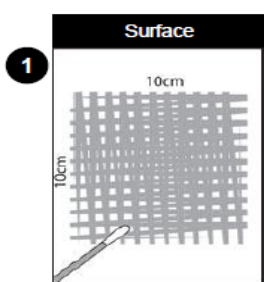
Gyorsteszt összcsíraszám kimutatására

Cikkszám: Dúsító eszköz (Step 1. Enrichment device) MS1-TOTAL

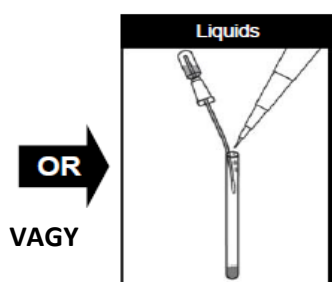
Detektáló eszköz (Step 2. Detection device) MS2-TOTAL

1. LÉPÉS

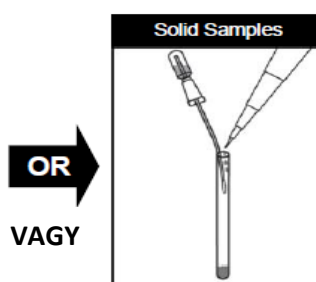
KÖRNYEZETI FELÜLETI TESZT, FOLYADÉKMINTA VAGY SZILÁRD MINTA ESETÉN



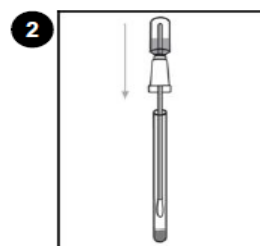
1.1. **Felület:** Mintázzon meg egy 10x10 cm-es területet az Enrichment Device segítségével.



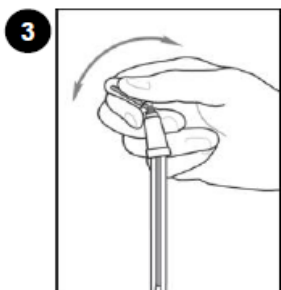
1.2. **Folyadék:** Adjon 1ml folyékony élelmiszer-, ital- vagy vízmintát közvetlenül az Enrichment Device eszközbe.



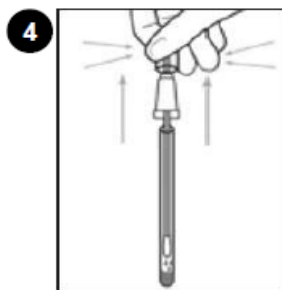
1.3 **Szilárd** termék: Adjon 1ml megfelelően hígított szilárd mintát közvetlenül az Enrichment Device eszközbe.



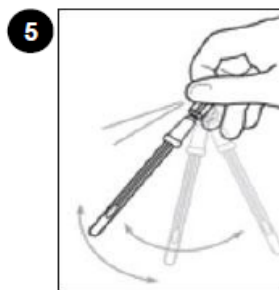
2. Helyezze vissza a Snap szelepet a csőbe.



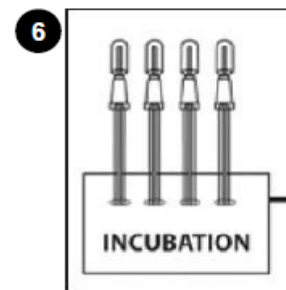
3. Aktiválja a tesztet, törje meg előre-hátra a Snap-szelepet.



4. Húzza szét egy-két centire a tartályt és a csövet, és nyomja meg a tartályt, hogy az összes táptalaj a cső aljába kerüljön. Tegye vissza a mintavevőt.



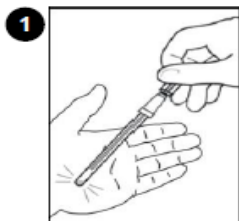
5. Óvatosan rázza meg a tesztet, hogy összekeveredjen a minta.



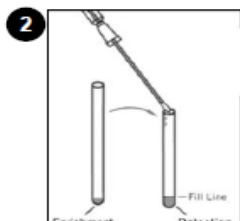
6. Inkubálja a mintát $30 \pm 0,5^\circ\text{C}$ -on **7 óra ± 10 percen át**. Folytassa a 2. lépéssel.

2. LÉPÉS

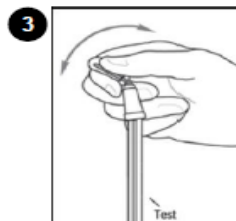
MEGHATÁROZÁS/MÉRÉS



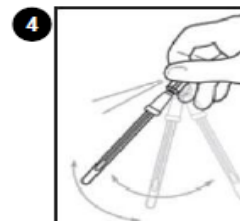
1. Hagyja, hogy a Detection Device (Mérőeszköz) szobahőmérsékletre melegedjen. Ütögessük az tesztet, hogy az extraháló folyadék a cső aljába jusson.



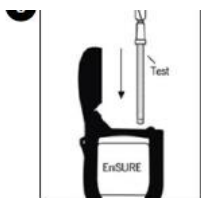
2. Aszeptikusan tegye át a dúsított mintát a dúsító eszközből a mérőeszközbe (Detection Device). Töltse jelre!



3. Aktiválja a tesztet, törje meg előre-hátra a Snap-szelepet, nyomja meg a tartályt, hogy az összes táptalaj a cső aljába kerüljön.



4. Óvatosan rázza meg a tesztet, hogy összekeveredjen a minta.



5. Azonnal tegye be az egész eszközt a luminométerbe és nyomja meg az „OK” gombot, hogy elinduljon a mérés.



6. Mérje le a tesztet RLU egységben. Lásd a 2. ábrát az eredmény értékeléséhez.