



MicroSnap® Total

Компоненты теста:

Устройства для обогащения

- Номер по каталогу MS1-TOTAL (MicroSnap® Total Enrichment Device)
- Номер по каталогу MS1-N-BROTH-9ML (Microsnap 9ml Enrichment Broth CC/EC/Total)

Устройство для детекции

- Номер по каталогу MS2-TOTAL (MicroSnap® Total Detection Device)



Введение

Описание и назначение

MicroSnap® Total – это быстрый тест для выявления и количественного определения жизнеспособных аэробных бактерий в образце, основанный на биолюминесценции и позволяющий получить результат через 7 часов. Тест MicroSnap Total состоит из устройства для обогащения (Enrichment Device) с запатентованной питательной средой, и устройства для детекции (Detection Device) с реагентами для биолюминесценции, в котором с помощью люминометра Hygiena® происходит измерение концентрации биомаркеров бактерий. Для таких образцов как непрозрачные жидкие суспензии, вместо устройства для обогащения предлагаются пробирки с 9 мл питательной среды.

Двухэтапная процедура тестирования включает короткий инкубационный период, необходимый для роста бактерий, и их детекцию. Во время инкубации численность бактерий увеличивается, а влияние образца снижается. По мере роста бактерии потребляют питательные компоненты среды и накапливают биомаркеры. Чем больше бактерий в образце, тем выше содержание биомаркеров и тем сильнее биолюминесценция. Для детекции аликвота обогащенного образца переносится в устройство для детекции, смешивается с реагентами при его активации и помещается в люминометр. Количество выделившегося света прямо пропорционально содержанию бактерий в предварительно обогащенном образце.

Требования к персоналу

К тестированию с помощью MicroSnap Total допускаются сотрудники лаборатории, обученные стандартной микробиологической практике.

Область применения

Тест MicroSnap Total применяется для определения количества метаболически жизнеспособных аэробных бактерий с поверхностей окружающей среды, из образцов продуктов и жидкостей. Метод (устройства MicroSnap для обогащения и для детекции) валидированы в рамках программы AOAC Research Institute *Performance Tested MethodsSM (PTM)* для различных продуктов питания, включая основные группы продуктов, такие как мясо, молоко и овощи. Более подробная информация приведена в сертификате AOAC RI PTM 031501 на сайте www.hygienea.com/documents.

Ограничения

Метод MicroSnap Total основан на измерении АТФ в качестве биомаркера. MicroSnap Total не был оценен со всеми возможными матрицами. См. раздел "[Ответственность пользователя](#)".

Важно, чтобы образцы перед тестированием с помощью MicroSnap были доведены до комнатной температуры (20–25°C). Образцы, взятые из холодильника (около 4°C), будут обогащены в меньшей степени, т.к. для их нагрева до температуры инкубации 30°C потребуется дополнительное время.



Важно, чтобы все среды и разбавители, используемые с MicroSnap Total, были стерильными. Ингибиторы в средах и разбавителях являются основной причиной большинства неудачных определений. Компания Hygiena рекомендует использовать разбавители, перечисленные в разделе "[Необходимые материалы](#)".

Дополнительные необходимые инструменты от Hygiena (не предоставляются)

- Люминометр EnSURE® Touch (Кат. № ETOUCH)
- Сухоблочный инкубатор (с температурой $30 \pm 0,5^\circ\text{C}$ или $32 \pm 0,5^\circ\text{C}$) (Кат. № INCUBATOR или INCUBATOR2)
- Варианты блоков для инкубаторов:
 - 35 лунок для тампонов, для INCUBATOR2 (Кат. № IB001)
 - 15 лунок для пробирок с 9 мл среды, для INCUBATOR2 (Кат. № IB002)
 - 12 лунок для тампонов, для INCUBATOR (Кат. № IB003)
 - 6 лунок для пробирок с 9 мл среды, для INCUBATOR (Кат. № IB004)

Необходимые материалы и инструменты для испытания образцов пищи (не предоставляются)

- Пакеты для гомогенизации образцов
- Гомогенизатор лопаточного типа
- Дозатор и наконечники на 1 мл и 0,1 мл
- Разбавитель для образцов продукции:
 - Забуференная пептонная вода
 - Среда для восстановления бактерий Maximum Recovery Diluent
Примечание: эта среда использована для исследования в рамках валидации AOAC RI *PTM*
 - Фосфатный буфер Butterfield
 - Стерильная вода
- Опционально, при использовании 9 мл среды: вортекс.

Рекомендации по использованию

- Для сложных образцов (например, непрозрачных растворов; образцов, которые могут содержать дезинфектанты, поверхностно-активные вещества или другие ингибирующие соединения) используйте для обогащения питательный бульон MicroSnap Enhanced Nutrient Broth в пробирках по 9 мл (подробнее см. [Приложение](#) и [схемы](#)).

Примечание: бульон MicroSnap Enhanced Nutrient Broth в пробирках по 9 мл не проходил сертификацию AOAC RI *PTM*.

- Образцы продуктов могут храниться до использования при температуре 4°C до 2 дней, но перед тестированием образцов с помощью MicroSnap Total их температуру необходимо довести до комнатной ($20\text{--}25^\circ\text{C}$).
- Устройство для обогащения MicroSnap Total Enrichment, пробирки с 9 мл MicroSnap Enhanced Nutrient Broth и устройство для детекции MicroSnap Total Detection перед использованием должны иметь комнатную температуру ($20\text{--}25^\circ\text{C}$).
- Соблюдайте стерильность: при отборе образца или переносе после обогащения не прикасайтесь пальцами к тампону, внутренней поверхности устройства для обогащения и пробирки.



Процедура тестирования

Шаг 1: Инкубация в устройстве для обогащения *MicroSnap Total Enrichment Device*

Процедура обогащения описана ниже, а также показана на [схемах Шага 1](#).

1. Отберите и подготовьте образец в соответствии с его типом, как указано ниже:
 - a. Смывы с поверхности – отбирайте предварительно увлажненным тампоном из устройства для обогащения с площади 10 x 10 см.
Важные советы по технике взятия смывов:
 - i. С неровных поверхностей отбирайте смывы однотипно во всех тестах, для взятия репрезентативного образца отбирайте смыв с достаточно большой площади.
 - ii. Отбирайте смыв реверсивными движениями по вертикали, горизонтали и диагонали.
 - iii. Вращайте тампон в процессе взятия смыва, чтобы собрать загрязнения на конце тампона.
 - iv. Нажимайте на тампон с усилием, достаточным для изгиба стержня тампона.
 - b. Жидкости – внесите 1 мл образца непосредственно в устройство для обогащения.
 - c. Твердые продукты – внесите 1 мл суспензии, например, 10% гомогената образца, непосредственно в устройство для обогащения.
 - i. Для приготовления гомогената взвесьте 10 или 50 г пищевого материала и поместите в пакет для гомогенизации с 90 или 450 мл разбавителя соответственно.
 - ii. Для определения неизвестного загрязнения приготовьте и протестируйте серии разведений суспензии 1:10 (т.е. 10%, 1% и 0,1%).
 - iii. Если требуются повторные пробы, то следует взять новые навески 10 или 50 г и повторить серию разведений. Также можно взять несколько аликвот объемом 1 мл из 10%, 1% или 0,1% разведений в зависимости от полученных относительных единиц света (англ. Relative Light Units, RLU).
Примечание: в ходе сравнительных испытаний с применением разных методов для получения сопоставимых результатов измерений интервал между подготовкой образцов не должен превышать 10 минут.
2. Вставьте тампон назад в пробирку устройства для обогащения. Оно должно выглядеть так же, как извлеченное из упаковки.
3. Активируйте устройство, для чего крепко удерживая пробирку с тампоном сломайте клапан, отгибая грушу вперед и назад большим и указательным пальцами.
4. Снимите грушу с пробирки и приподнимите так, чтобы кончик тампона находился над жидкостью, затем сожмите грушу, чтобы выдавить всю среду из нее в пробирку. Убедитесь, что большая часть питательной среды находится на дне пробирки.
5. Снова плотно вставьте тампон в пробирку, чтобы герметично закрыть устройство, и осторожно встряхните пробирку для перемешивания образца и среды.
6. Инкубируйте при $30 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 7 часов \pm 10 минут.

Шаг 2: Детекция

Процедура детекции описана ниже, а также показана на схемах ([MicroSnap Enrichment Device](#) или [MicroSnap Enhanced Nutrient Broth Vial](#)).



Перед началом шага 2 включите люминометр. Если образец MicroSnap, внесен в память, откройте его.

Не забудьте перед использованием выдержать устройство для детекции MicroSnap Total Detection Device 10 минут при комнатной температуре (20–25°C).

1. Встряхните устройство постукиванием по ладони 5 раз или однократным резким движением вниз. Это необходимо для того, чтобы жидкость оказалась на дне пробирки, что облегчит перемешивание обогащенного образца с реагентами в пробирке.

2. Асептически перенесите 0,1 мл или 2 капли обогащенного образца в устройство для детекции:

- a. Для устройств MicroSnap используйте встроенный тампон с грушей в качестве пипетки:

- i. Сожмите и отпустите грушу устройства для обогащения, чтобы перемешать и набрать образец в грушу.
- ii. Асептически откройте устройства для обогащения и для детекции, сняв с них груши.
- iii. Удерживая тампон устройства для обогащения у верхнего конца пробирки устройства для детекции, слегка сожмите грушу устройства для обогащения так, чтобы 2 капли обогащенного образца попали в пробирку устройства для детекции.

Примечание: в качестве ориентира для заполнения на пробирке имеется уровень. Разница объемов переносимой жидкости обуславливает разброс результатов тестирования.

- b. Для пробирок с 9 мл среды MicroSnap:

- i. Извлеките пробирку с обогащенным образцом из инкубатора и перемешайте содержимое в течение 10 секунд для диспергирования образца.
- ii. Асептически откройте пробирку и устройство для обогащения, сняв с него грушу.
- iii. Асептически перенесите 0,1 мл обогащенного образца в устройство для детекции.

- c. Закройте устройство для обогащения или пробирку с образцом и верните образец в инкубатор для возможного повторного тестирования.

Примечание: при повторном тестировании для получения сопоставимых результатов все операции с образцами должны быть выполнены с интервалом не более 10 минут.

3. Активируйте устройство для детекции, для чего крепко удерживая пробирку сломайте клапан, отгибая грушу вперед и назад большим и указательным пальцами. Сожмите грушу 3 раза, чтобы выдавить из нее всю жидкость на дно пробирки.
4. Осторожно встряхните устройство в течение 2 секунд для перемешивания.
5. Сразу же вставьте устройство в люминометр, закройте крышку и, удерживая прибор в вертикальном положении, нажмите кнопку для начала измерения.
6. Результаты, выраженные в КОЕ (CFU), появятся на экране люминометра через 10 секунд.

Примечание: образцы MicroSnap могут быть внесены в память люминометра с помощью программного обеспечения SureTrend®.



Дополнительная информация

Потенциальный предел обнаружения

Предел обнаружения – это минимальное количество жизнеспособных аэробных бактерий, которое может быть обнаружено на фоне матрицы при правильном и эффективном выполнении анализа.

Чувствительность повышается по мере увеличения времени инкубации. За 7 часов уровень обнаружения приближается к 10–100 КОЕ/мл, а динамический диапазон MicroSnap Total в люминометре EnSURE Touch пропорционален реальному диапазону RLU, достижимому в приборе EnSURE Touch (табл. 1).

Таблица 1. Потенциальный динамический диапазон при 7-часовой инкубации с люминометром EnSURE Touch.

Тип образца	Диапазон КОЕ*
Смыв с поверхности (10 × 10 см)	10 – 1 000 000 КОЕ/мазок
Жидкость (1 мл)	10 – 500 000 КОЕ/мл
Суспензия твердого вещества (10% вес/объем)	100 – 50 000 КОЕ/г [†]

* Дополнительные факторы, такие как разведение, время инкубации и типы матриц, могут изменять диапазоны, приведенные в табл. 1.

[†] Образцы, содержащие КОЕ больше, чем указано в табл. 1, перед считыванием результатов на люминометре необходимо дополнительно разбавить:

- 1% суспензия дает диапазон 1 000 – 500 000 КОЕ
- 0,1% суспензия дает диапазон 10 000 – 5 000 000 КОЕ

Примечание: при тестировании серии разведений все разведения должны быть приготовлены и протестированы с интервалом не более 10 минут.

Сертификация AOAC RI *Performance Tested Methods*SM.

Обнаружение аэробных гетеротрофных бактерий с помощью MicroSnap Total (т.е. устройств для обогащения и детекции MicroSnap) с люминометром EnSURE Touch получило сертификат AOAC RI *PTM* (лицензия №031501).



Пищевые образцы тестировали с естественной контаминацией, бактерии не добавляли, но все образцы (табл. 2) содержали то или иное их количество. Из-за постоянного присутствия бактерий получение истинно отрицательных результатов в реальных пищевых образцах затруднено. Нижний предел обнаружения 100 КОЕ/г является приемлемым при использовании MicroSnap Total с инкубацией 7ч.

Таблица 2. Валидированные матрицы с устройствами для обогащения* и детекции MicroSnap.

Количественный (50 г с временем обогащения 7 часов ± 10 минут)
Свежий говяжий фарш (<20% жира)
Сырая курица
Сырое коровье молоко
Торт со свежим кремом (17% жирности)
Листья салата

* Устройство для обогащения MicroSnap (объем образца 1 мл)

Дополнительная информация о валидации от Hygiena.

В дополнение к типам образцов, включенным в сертификационные исследования AOAC (Таблица 2), лаборатории Hygiena продолжают тестировать другие матрицы. Оптимальное тестирование некоторых образцов включало использование улучшенного питательного бульона (9 мл), не включенного в



сертификацию AOAC PTM. Для получения информации и помощи в работе с этими и другими матрицами обратитесь в службу технической поддержки по адресу www.hygiena.com/support.

Интерпретация результатов

На люминометрах EnSURE Touch отображается значение КОЕ, легко переводимое в КОЕ/г или КОЕ/мл.

В случае приготовления разведений при тестировании образцов с неизвестным уровнем контаминации, величина КОЕ/г или КОЕ/мл рассчитывается путем умножения результата в КОЕ на соответствующий коэффициент разбавления. Программное обеспечение EnSURE Touch упрощает эту процедуру и выполняет расчеты автоматически, используя данные, полученные в ходе валидации AOAC, а также дополнительных внутренних испытаний.

Поиск и устранение неполадок

В табл. 3 приведены рекомендации по устранению некоторых часто встречающихся эффектов влияния образца. Для получения консультаций по протоколам или типам образцов обращайтесь по адресу www.hygiena.com/support.

Таблица 3. Устранение влияния образца

Наблюдение	Возможная причина	Рекомендуемые действия
Нехарактерно высокое значение КОЕ в некоторых образцах, например, листовой зелени	Некоторые типы образцов естественным образом содержат высокие концентрации нуклеотидов, которые могут увеличить КОЕ.	Свяжитесь с нами, чтобы получить помощь в настройке пересчета RLU в КОЕ и пороговых уровней прибора для вашего типа образца.
Нехарактерно низкое значение КОЕ в плотных, непрозрачных или темноокрашенных образцах, например, в неразбавленном молоке или шоколаде	Помехи при регистрации света люминометром могут быть вызваны эффектом рассеивания образцом.	Для обогащения используйте среду MicroSnap Enhanced Nutrient Broth в пробирках объемом 9 мл. Подробности см. в Приложении .

Калибровка и контроль

Рекомендуется проводить положительный и отрицательный контроль в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики. Компания Hygiena предлагает следующее устройство для проверки калибровки: CalCheck LED Calibration Verification Device (Кат. №. CAL).

Хранение и срок годности

- Хранить при температуре от 2 до 8°C.
- Не использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке.

Утилизация

Перед утилизацией продезинфицировать. Устройства MicroSnap можно дезинфицировать в автоклаве или замачиванием открытых устройств в 20% гипохлорите натрия на 1 час. Затем их можно утилизировать как бытовой мусор. В качестве альтернативы устройства MicroSnap можно сдавать на предприятие по утилизации биологически опасных отходов.

Безопасность и меры предосторожности

- При правильном использовании компоненты MicroSnap не представляют опасности для здоровья. Использованные устройства после подтверждения положительного результата могут представлять биологическую опасность и должны быть утилизированы в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики и правил техники безопасности (см. инструкции по утилизации выше).



- Устройства и пробирки используют однократно. Повторное использование не допускается.
- Отбор проб должен производиться асептически, чтобы избежать перекрестной контаминации.
- Избегайте длительного воздействия света.
- Убедитесь в том, что температура и время инкубации соответствуют условиям применения теста.
- Время инкубации для получения количественных результатов составляет 7 часов \pm 10 минут, как указано в инструкциях выше, если только специалисты компании Hygiena не указали иное для каких-либо специальных исследований, требующих иного времени инкубации.
- Обеспечьте правильное разведение образцов, чтобы результаты анализа находились в пределах динамического диапазона люминометра.
- При тестировании серии разведений для получения линейных результатов все разведения должны быть приготовлены и протестированы с интервалом не более 10 минут.
- При повторном тестировании одного и того же обогащенного образца для получения сопоставимых результатов все повторы должны быть выполнены с интервалом не более 10 минут.
- При проведении сравнительных испытаний для получения сопоставимых результатов измерений интервал между подготовкой образцов не должен превышать 10 минут.

Предостережения и ответственность пользователя

- Тест MicroSnap не проверялся со всеми возможными пищевыми продуктами, пищевыми процессами, протоколами тестирования или со всеми возможными штаммами микроорганизмов.
- Не используйте этот тест для диагностики заболеваний у людей и животных.
- Ни одна питательная среда не будет восстанавливать и обогащать конкретный штамм так же, как любая другая среда. На восстановление могут влиять внешние факторы, такие как метод отбора проб, протокол тестирования и обработка результатов.
- При оптимизации метода испытаний необходимо протестировать достаточное количество образцов.
- Как и в случае с любым культуральным тестом, результаты MicroSnap не гарантируют качество продукта.
- Персонал должен быть обучен методике тестирования и стандартной микробиологической практике.

Ответственность компании Hygiena

Как и в случае с любым тестом на основе культуральной среды, результаты MicroSnap Total не являются гарантией качества продуктов питания, напитков или процессов, которые тестируются с помощью этих приборов. Компания Hygiena не несет ответственности перед пользователем или другими лицами за любые потери или ущерб, прямые или косвенные, случайные или последующие, связанные с использованием этих устройств. В случае обнаружения дефектов компания Hygiena обязана заменить устройство или, по своему усмотрению, возместить стоимость покупки. Немедленно, в течение 5 дней после обнаружения любого предполагаемого дефекта, уведомите компанию Hygiena и верните изделие компании Hygiena; обратитесь в службу поддержки для получения номера разрешения на возврат товара.

Контактная информация

За дополнительной информацией обращайтесь по адресу www.hygienea.com/contact. За помощью – www.hygienea.com/support.

Performance Testing MethodsSM является знаком обслуживания AOAC International.

**Приложение:****Обогащение сложных образцов в среде MicroSnap Enhanced Nutrient Broth 9 мл**

Питательная среда MicroSnap 9 мл предназначена для выращивания аэробных и факультативных микроорганизмов, способствует накоплению биомаркеров и специфических ферментов для определения БГКП и *E. coli*, и снижает влияние образца. В первую очередь среда предназначена для определения бактерий в непрозрачных жидких суспензиях (например, БГКП в пастеризованном молоке).

Среда MicroSnap Enhanced Nutrient Broth – это готовая к использованию среда, совместимая с устройствами MicroSnap для детекции ОМЧ (Кат. № MS2-TOTAL), БГКП (Кат. № MS2-COLIFORM) и *E. coli* (Кат. № MS2-ECOLI). Инструкции, приведенные ниже, предназначены для обогащения молока, непрозрачных растворов и других сложных пищевых образцов. За помощью в оптимизации протокола для других образцов, включая подбор температуры при обогащении, обращайтесь в компанию Hygiena.

Важные советы перед началом тестирования

- Перед использованием визуально осмотрите жидкость во флаконе. Жидкость должна быть прозрачной, светло-соломенного цвета, не мутной и не белесой.
- Перманентным маркером нанесите номер образца на этикетку флакона.

Шаг 1: Обогащение в среде MicroSnap Enhanced Nutrient Broth

Процедура обогащения описана ниже, а также показана на [диаграммах Шага 1](#).

1. Сбор и подготовка образца осуществляется асептически:
 - a. Жидкие образцы – внесите 1 мл образца непосредственно в пробирку со средой.
 - b. Твердые образцы – внесите 1 мл подходящего разведения образца в стерильном разбавителе непосредственно в пробирку со средой.
2. Плотнo закройте крышку пробирки.
3. Для перемешивания содержимого встряхивайте 10 секунд вручную или на вортексе.
4. Инкубируйте флакон 7 часов \pm 10 минут в цифровом сухоблочном инкубаторе Hygiena при температуре, соответствующей типу образца (табл. 4).

Таблица 4. Температура и потенциальный динамический диапазон для 7-часовой инкубации.

Тип образца	Температура инкубации (°C)	Диапазон КОЕ
Молоко	32 \pm 0.5	50 – 25,000
Жидкий или твердый пищевой продукт	30 \pm 0.5	

Шаг 2: Детекция

Следуйте [инструкциям по детекции](#), как описано выше



Устройства для обогащения и детекции MicroSnap® Total

Шаг 1: Обогащение образца

1a Surface

1a Поверхность: взять смыв с участка 10×10 см при комнатной температуре (RT).

1b Liquids

1b Жидкости: внести 1 мл жидкости в устройство для обогащения при RT.

1c Solid Samples

1c Твердые образцы: внести 1 мл разведения образца в устройство для обогащения при RT.

2

2. Надеть грушу на пробирку устройства.

3

3. Активировать устройство, согнув грушу и сломав клапан.

4

4. Приподнять грушу (на 2–3 см) и сжать до выдавливания жидкости в пробирку.

5

5. Надеть грушу на пробирку и осторожно встряхнуть для перемешивания.

6

6. Инкубировать 7 ч ± 10 мин при 30 ± 0,5°C. Перейти к шагу 2.

Шаг 2: Детекция

1

1. Довести температуру устройства до комнатной. Встряхнуть его и сбросить жидкость на дно.

2

2. Перенести 2 капли (0,1 мл) обогащенного образца в устройство для детекции.

3

3. Активировать устройство. Сжать грушу до выдавливания жидкости в пробирку.

4

4. Осторожно встряхнуть для перемешивания.

5

5. EnSURE® Touch: В приложении MicroSnap® выбрать образец или Quick Test. Затем – Run Test.

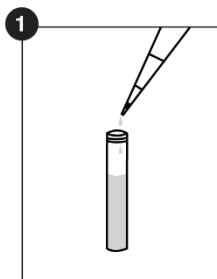
6

6. EnSURE Touch: Результат автоматически сохраняется и передается в SureTrend® для анализа и составления отчетов.

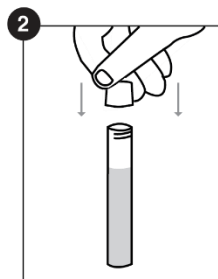


Среда MicroSnap® Enhanced Nutrient Broth 9 мл и MicroSnap Detection Device

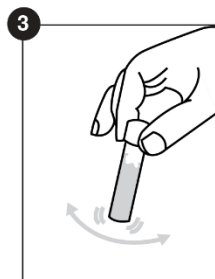
Шаг 1: Обогащение образца



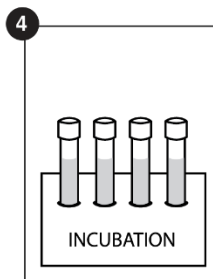
1. Выдержать образец и среду при 20–25°C. Внести в пробирку 1 мл соответствующего разведения образца.



2. Плотно закрыть крышку.



3. Встряхивать 10 сек вручную или на вортексе.

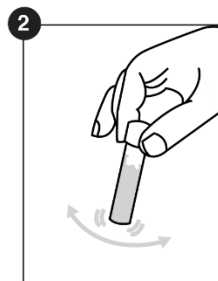


4. Инкубировать 7 ч ± 10 мин при 30 ± 0,5°C (пищевые продукты) или 32 ± 0,5 °C (молоко).

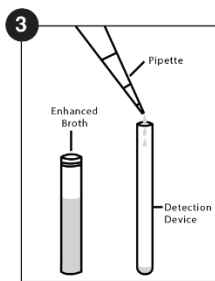
Шаг 2: Детекция



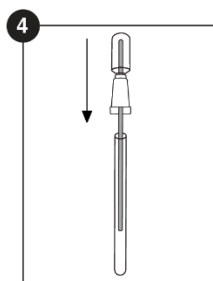
1. Довести температуру устройства до комнатной. Встряхнуть его и сбросить жидкость на дно.



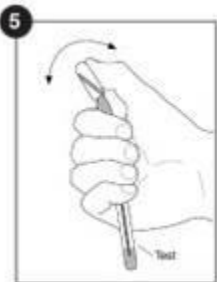
2. Встряхивать 10 сек вручную или на вортексе.



3. Перенести 0,1 мл обогащенного образца в устройство для детекции.



4. Собрать устройство для детекции в исходное состояние.



5. Активировать устройство. Сжать грушу до выдавливания жидкости в пробирку.



6. Осторожно встряхнуть для перемешивания.



7. EnSURE® Touch: В приложении MicroSnap® выбрать образец или Quick Test. Затем – Run Test.



8. EnSURE Touch: Результат автоматически сохраняется и передается в SureTrend® для анализа и составления отчетов.