

MicroSnap® Coliform a E.coli

Pro použití těchto produktů:

Pomnožení

- MS1-CEC (MicroSnap® Coliform & E. coli Enrichment Device)
- MS1-N-BROTH-9ML (MicroSnap® Enhanced Nutrient Broth v 9 ml lahvičkách)
- MS1-EB-BROTH-9ML (MicroSnap® Enhanced EB Broth v 9 ml lahvičkách)

Detekce

- MS2-COLIFORM (MicroSnap® Coliform Detection Device)
- MS2-ECOLI (MicroSnap® E. coli Detection Device)



Úvod

Popis a určené použití

MicroSnap® Coliform a E. coli jsou rychlé bioluminogenní testy pro detekci a stanovení počtu koliformních bakterií a Escherichia coli v produktech a vzorcích prostředí za 6 nebo 8 hodin. MicroSnap Coliform a E. coli se skládají z Enrichment Device, pomnožovacího přípravku, obsahujícího specifické růstové médium a Detection Device, detekčního přípravku, obsahujícího bioluminogenní substrát, ve kterém je detekční reakce měřena pomocí luminometru Hygiene®.

Dvoustupňový testovací postup vyžaduje krátkou inkubační dobu usnadňující obnovu bakterií, po níž následuje krok detekce. Doba inkubace vzorku je určena úrovní požadované citlivosti. Během inkubace bakterie využívají dostupné zdroje potravy v médiu a produkují více beta-galaktosidázy a beta-glukuronidázy, což jsou diagnostické enzymy potřebné pro bioluminogenní reakci.

Po inkubaci se malé množství pomnoženého roztoku z pomnožovacího přípravku přenese do detekčního přípravku, aktivuje se, inkubuje se 10 minut a poté se měří v luminometru EnSURE® Touch. Specifické substráty reagují s diagnostickými enzymy za vzniku světla. Čím větší je počet bakterií ve vzorku, tím vyšší je koncentrace biomarkeru a tím větší je výstup světla. Světlo se měří během několika sekund. Jednotkou měření jsou kolonie tvořící jednotky (KTJ/CFU). Množství produkovaného světla je přímo úměrné koncentraci bakteriální kontaminace v pomnožených vzorcích.

Některé matrice, jako jsou neprůhledné tekuté suspenze nebo vzorky s extrémními hodnotami pH, mohou vyžadovat ředění. V těchto případech nabízíme 9 ml lahvičky obsahující proprietární bujóny pro použití místo pomnožovacího přípravku. Je nutno poznamenat, že použití bujónů Enhanced Broth v 9 ml lahvičkách není zahrnuto v certifikaci AOAC Research Institute (RI) Performance Tested MethodsSM (PTMSM).

Enhanced EB Broth (9 ml lahvička) je selektivnější pro koliformní bakterie a E. coli v přítomnosti bakterií mléčného kvašení (LAB) nebo Enterobacteriaceae, zatímco Enhanced Nutrient Broth (9 ml lahvička) poskytuje lepší regeneraci aerobních bakterií, koliformních bakterií a E.coli. Pokyny pro výběr bujónu MicroSnap jsou shrnuty v tabulce 1.

Tabulka 1. Výběr MicroSnap Enhanced Broth

Cíle testování	Typ lahvičky
Celkové počty a koliformy/E.coli	Enhanced Nutrient Broth
Enterobacteriaceae a koliformy/E.coli	Enhanced EB Broth
pouze koliformy/E.coli - nízký obsah jiných mikroorganismů	Enhanced Nutrient Broth
pouze koliformy/E.coli - vysoký obsah jiných mikroorganismů	Enhanced EB Broth



Určený uživatel

Laboratorní personál vyškolený ve standardní mikrobiologické praxi má kvalifikaci pro používání testů MicroSnap.

Použitelnost

MicroSnap Coliform a E. coli je použitelný na stanovení počtu koliformních bakterií a E. coli z povrchů prostředí, vzorků produktů, vody a dalších filtrovatelných kapalin. Metoda byla ověřena prostřednictvím certifikace AOAC RI PTM pro různé druhy potravin, včetně masa, mléčných výrobků, mořských plodů, zeleniny a nápojů. Podrobnosti naleznete v certifikátu AOAC RI PTM 071302 na www.hygiene.com/documents.

Potřebné vybavení (není součástí sady)

- Luminometr EnSURE Touch (kat.č. ETOUCH)
- Inkubátor nebo topný blok ($37 \pm 0,5^\circ\text{C}$) (kat.č. INCUBATOR)
 - varianty bloků: 12 jamek na stěry nebo 6 jamek na 9ml lahvičky

Potřebné vybavení na testování vzorků produktů (není součástí sady)

- Sáčky na vzorky
- Zařízení na homogenizaci
- Pipeta a špičky na 1 ml
- Ředící médium (pufrovaná peptonová voda, Maximum recovery diluent (použitý ve validační studii AOAC RI PTM), Butterfield's diluent, sterilní voda)

Důležité tipy a poznámky před zahájením testu

- U vzorků, které mohou vyžadovat ředění (např. neprůhledné roztoky; vzorky, které mohou obsahovat dezinfekční činidla, povrchově aktivní látky nebo jiné inhibiční sloučeniny), použijte pro pomnožení MicroSnap Enhanced EB Broth nebo Nutrient Broth (podrobnosti viz Příloha a diagramy).
- Vzorky produktu lze před použitím skladovat při teplotě 2 až 8 °C po dobu až 2 dnů, ale před testováním vzorků pomocí MicroSnap Coliform a E. coli je třeba je vytemperovat na pokojovou teplotu (20 až 25 °C).
- Pomnožovací přípravky nebo lahvičky (tj. MicroSnap Coliform a E. coli Enrichment Devices, MicroSnap Enhanced EB Broth a MicroSnap Enhanced Nutrient Broth) a detekční přípravky (tj. MicroSnap Coliform Detection Devices a MicroSnap E. coli Detection Devices) musí být před použitím vytemperovány na 20 až 25 °C.
- Používejte aseptické techniky: při odběru vzorků nebo přenosu pomnožených vzorků se nedotýkejte tamponu ani vnitřku pomnožovacího přípravku nebo lahvičky prsty.

Postup testu

KROK 1: Pomnožení

Postup pomnožení je popsán níže a je také znázorněn v diagramech kroku 1.

1) Odeberte a připravte vzorek, podle typu:

- a) Vzorky povrchu - Použijte navlhčený pomnožovací přípravek a odeberte vzorek z plochy 10 x 10 cm

Důležité tipy na techniku stěru:

- i) Aplikujte **dostatečný tlak**, abyste vytvořili ohyb v násadě stěru.
- ii) Tamponem stírejte křížem krážem vertikálně, horizontálně a diagonálně v obou směrech.
- iii) Při odběru vzorku otáčejte stěrem, abyste maximalizovali odběr vzorku na tamponu.
- iv) U nepravidelných povrchů dodržujte při každém testu konzistentní techniku stírání; setřete dostatečně velkou plochu pro **odebrání reprezentativního vzorku**.



- b) Kapalné vzorky - Přeneste 1 ml kapaliny nebo vody přímo do pomnožovacího přípravku.
- c) Pevné vzorky produktů - Přeneste 1 ml vhodné suspenze (např. homogenát 10% w/v) přímo do pomnožovacího přípravku
 - i) Potravinový homogenát by měl být připraven navážením 10 nebo 50 g potravinové matrice do sáčku Stomacher obsahujícího 90 ml nebo 450 ml diluentu.
 - ii) Pro neznámou kontaminaci vzorku připravte a otestujte sériová ředění 1:10 (tj. 10 %, 1 % a 0,1 %).
 - iii) Jsou-li vyžadovány duplicitní vzorky, mělo by se ze základní matrice odebrat dalších 10 g nebo 50 g a série ředění by se měla opakovat. Replikace lze pak dosáhnout odebráním více 1 ml alikvotů buď z 10%, 1% nebo 0,1% ředění, v závislosti na dosažených CFU.

Poznámka: Při provádění srovnávacího testování musí být testy vzorků zahájeny do 10 minut od sebe, aby byly výsledky mezi metodami srovnatelné.

- d) Tampón vložte zpět do tuby. Přípravek by měl vypadat stejně jako při prvním vyjmutí ze sáčku.
- 2) Aktivujte přípravek - pevně uchopte přípravek a palcem a ukazováčkem zlomte ventil ohnutím ampule tam a zpět (slyšitelné cvaknutí).
 - 3) Povytáhněte baňku z tuby, dokud špička tamponu nebude nad tekutinou, a zmáčkněte baňku, abyste vytlačili veškeré médium do tuby. Ujistěte se, že většina bujónu je na dně tuby.
 - 4) Tampón znovu pevně zasuňte, aby byl přípravek utěsněn, a jemně protřepejte, aby se vzorek s bujónem promíchal.
 - 5) Inkubujte při $37 \pm 0,5$ °C po dobu 6 hodin \pm 10 minut pro kvantitativní výsledky (počty) nebo 8 – 24 hodin pro kvalitativní výsledky (přítomnost/nepřítomnost).

Poznámka: V kvalitativních validačních studiích AOAC RI PTM byly vzorky inkubovány po dobu 8 hodin \pm 10 minut.

KROK 2: Detekce

Postup detekce je popsán níže a je také zobrazen v diagramech dále.

Před zahájením kroku 2 zapněte luminometr. Pokud jste naprogramovali vzorek MicroSnap v luminometru, otevřete testovací obrazovku vzorku, který chcete testovat.

Před použitím nezapomeňte detekční přípravek MicroSnap Coliform nebo E. coli (MS2-COLIFORM nebo MS2-ECOLI) **vytemperovat na pokojovou teplotu** (10 minut při 20 až 25 °C).

- 1) Sklepněte detekční přípravek buď 5x poklepáním na dlaň, nebo jedním silným švihnutím směrem dolů.

Poznámka: Toto je nutné, aby se veškerá kapalina dostala na dno tuby, což usnadní smíchání pomnoženého vzorku s extrakčním činidlem ve zkumavce.

- 2) Asepticky přeneste 0,1 ml (2 kapky) pomnoženého vzorku do detekčního přípravku.
 - a) V případě přípravku MicroSnap Enrichment Device použijte jeho ampuli jako pipetu:
 - i) Opakovaně stiskněte a uvolněte ampuli pomnožovacího přípravku, aby se vzorek promíchal a natáhl do baňky.
 - ii) Asepticky otevřete pomnožovací přípravek a detekční přípravek otáčením a tahem, abyste vyjmuli ampule.
 - iii) Vložte tampón pomnožovacího přípravku asi 3 cm (1 palec) do horní části tuby detekčního přípravku a jemně stiskněte ampuli pomnožovacího přípravku, abyste přenesli 2 kapky pomnoženého vzorku do tuby.

Poznámka: Plnicí čára je na tubě jako reference. Nekonzistentní přenosové objemy zvyšují

variabilitu výsledků testu.

b) V případě lahvíček MicroSnap Broth:

- i) Vyjměte lahvičku s Enhanced Broth z inkubátoru a poté protřepejte nebo vortexujte po dobu 10 sekund, aby se vzorek zhomogenizoval.
- ii) Asepticky otevřete lahvičku s bujónem a také vytáhněte ampuli z detekčního přípravku otáčením a tahem.
- iii) Asepticky napipetujte 0,1 ml pomnoženého vzorku přímo do tuby detekčního přípravku.

c) Znovu sestavte pomnožovací přípravek do původního stavu nebo znovu uzavřete lahvičku a vraťte vzorek do inkubátoru k případnému opakovanému testování.

Poznámka: Při testování replikátů ze stejného pomnoženého vzorku musí být všechny replikáty provedeny do 10 minut od sebe, aby byly získány srovnatelné výsledky.

- 3) Aktivujte detekční přípravek - pevně uchopte přípravek a palcem a ukazováčkem zlomte ventil ohnutím ampule tam a zpět (slyšitelné cvaknutí). Ampuli 3x stiskněte, aby se veškerá kapalina dostala na dno tuby.
- 4) Lehce protřepejte po dobu 2 vteřin.
- 5) Inkubujte detekční přípravek po dobu $10 \pm 0,5$ minuty při $37 \pm 0,5$ °C.
- 6) Okamžitě vložte celý přípravek do luminometru, zavřete víčko a při držení přístroje ve svislé poloze klikněte na tlačítko pro zahájení měření.
- 7) Luminometr EnSURE Touch za 10 vteřin zobrazí výsledek v jednotkách KTJ (CFU).

Poznámka: Vzorky MicroSnap lze naprogramovat přímo na luminometru nebo pomocí softwaru SureTrend®.

Doplňující informace

Další testy

Pokud je pomocí testů MicroSnap Coliform Detection Device (MS2-COLIFORM) nalezen pozitivní výsledek (tj. přítomnost koliformů), potvrďte přítomnost nebo nepřítomnost E. coli ve vzorku opakováním výše uvedeného "Krok 2: Detekce" s dalším alikvotem ze stejného pomnoženého vzorku a použijte MicroSnap Detection Device E. coli (MS2-ECOLI). Pokud provádíte pouze testy na E. coli, je možné zvážit další potvrzující test, jako např. PCR na systému Hygiena BAX®.

Potenciální limit detekce

Limit detekce je nejnižší úroveň počtu životaschopných aerobních bakterií, kterou lze detekovat nad pozadím potravinové matrice, když je test prováděn správně a efektivně.

Tabulka 2. Potenciální dynamický rozsah (detekční limit) pro luminometr EnSURE Touch

Typ vzorku	Rozsah KTJ* Pomnožení: 6 h ± 10 min	KTJ Přítomnost nebo nepřítomnost Pomnožení: 8 h ± 10 min†
Povrch	10 - 10.000 KTJ / stěr	0 KTJ (nepřítomnost) 1 KTJ (pozor) ≥2 KTJ (přítomnost)
Kapalina	10 - 10.000 KTJ / ml	
Suspenze pevného vzorku (10% w/v)	100 - 10.000 KTJ / g	

* Rozsahy uvedené v této tabulce mohou změnit další faktory, jako jsou ředění, inkubační doby a typy matric. Pokud je kontaminace vzorku nad rozsahy podrobně uvedenými v této tabulce, je třeba provést ředění tak, aby kontaminace byla v detekovatelném rozsahu luminometru. Například:

- 1% suspenze bude mít 1 000 – 100 000 CFU na 6-hodinovou inkubaci.

- 0,1% suspenze bude 10 000 – 1 000 000 CFU při 6-hodinové inkubaci.

† Inkubační dobu při testování přítomnosti/nepřítomnosti lze **prodloužit až na 24 hodin**. *Poznámka:* Při kvalitativních validačních studiích AOAC RI PTM by použita doba pomnožení 8 hodin ± 10 minut.

Interpretace výsledků

Výsledky na luminometrech EnSURE Touch jsou uvedeny v KTJ (CFU) a poskytují kvalitativní (přítomnost/nepřítomnost) i kvantitativní (KTJ/g nebo KTJ/ml) výsledky.

Pokud je připraveno a testováno několik ředění pro vzorky s neznámou kontaminací, vypočítá se KTJ/g nebo KTJ/ml vynásobením výsledku KTJ odpovídajícím faktorem ředění. Software EnSURE Touch provádí tuto konverzi pomocí dat generovaných z validačních studií AOAC RI PTM a také z dalšího interního testování.

Certifikace AOAC RI Performance Tested MethodSM

Detekce koliformních bakterií a E. coli pomocí systému MicroSnap Coliform and E. coli (tj. přípravy MicroSnap Coliform&E. coli Enrichment Device s přípravky MicroSnap Coliform Detection Device nebo MicroSnap E. coli Detection Device) a luminometrů Hygiene získala certifikaci AOAC RI PTM (Licence #071302) od AOAC Research Institute.



Potraviny testované v rámci validace AOAC RI PTM jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3. Matrice validované s testy MicroSnap Coliform a E.coli na luminometrech Hygiene.

Kvantitativní (pomnožení: 6 h ± 10 min)		Kvalitativní (pomnožení: 8 h ± 10 min)	
Coliform	E.coli	Coliform	E.coli
Syrové mleté hovězí maso	Syrové mleté hovězí maso	Syrové mleté hovězí maso	Syrové mleté hovězí maso
BLT sendvič	BLT sendvič	-	BLT sendvič
Syrová treska	Syrová treska	Syrová treska	Syrová treska
Vařené kuře	Vařené kuře	Vařené kuře	Vařené kuře
Hlávkový salát	Hlávkový salát	Hlávkový salát	-
Mléko	Mléko	Mléko	Mléko
Syrové kuře	Syrové kuře	Syrové kuře	Syrové kuře
RTE šunka	RTE šunka	-	-
Syrové krevety	Syrové krevety	Syrové krevety	Syrové krevety
Balená voda	Balená voda	Balená voda	Balená voda

Dodatečné validace Hygiene

Kromě matic zahrnutých do certifikačních studií AOAC RI PTM (tabulka 3) laboratoře Hygiene pokračují v testování dalších matic, jako je např. čokoládové mléko nebo pasterizované mléko. Optimální testování pro některé matrice zahrnovalo použití lahviček Enhanced EB Broth nebo Enhanced Nutrient Broth (9 ml), které nebyly zahrnuty pod certifikaci AOAC RI PTM. Pro kvalitativní testování mají někteří uživatelé ověřené prodloužené inkubační doby (až 24 h), což také není zahrnuto pod certifikací AOAC RI PTM.

Pro informace a pomoc s dalšími maticemi kontaktujte technickou podporu na www.hygiene.com/support.

Omezení

Je důležité, aby vzorky byly před použitím v přípravcích MicroSnap vytemperovány na pokojovou teplotu (20 až 25 °C). Vzorky, které nejsou před inkubací přivedeny na pokojovou teplotu (např. odebrané přímo z chladničky při 2 až 8 °C), budou nedostatečně detekovány kvůli časové prodlevě při dosažení inkubační teploty.

Je důležité, aby všechna média nebo diluenty použité s MicroSnap Coliform a E. coli byla sterilní. Inhibitory přítomné v použitých médiích a diluentech jsou hlavním důvodem většiny neúspěšných detekcí. Hygiene doporučuje diluenty uvedené v části **Potřebné vybavení**.

Enzymatické profily některých koliformních bakterií, jako jsou např. kmeny *Hafnia alvei*, se liší od většiny ostatních koliformních bakterií, takže tyto kmeny nebudou detekovány ani vyhodnoceny běžnými biochemickými a chromogenními detekčními metodami, jako jsou i ty, které se používají při testování pomocí MicroSnap.

Organismy s podobnými enzymatickými profily, jako je *Shigella sonnei*, nelze odlišit od *E. coli* biochemickými ani chromogenními detekčními metodami, jako jsou i ty, které se používají při testování pomocí MicroSnap. Kromě toho enzymatické profily pro některé *E. coli* produkující toxin Shiga (STEC), jako je *E. coli* O157:H7, znamenají, že budou detekovány a vyhodnoceny testem MicroSnap Coliform, ale ne testem MicroSnap *E. coli*. Další podrobnosti najdete v části Upozornění a odpovědnost uživatele nebo nás kontaktujte.

Odstraňování problémů

Tabulka 4 poskytuje návod, jak překonat některé běžně pozorované efekty vzorku. Pro další protokoly nebo podporu u konkrétní matrice nás kontaktujte na www.hygiene.com/support.

Tabulka 4. Odstraňování problémů

Pozorování	Možná příčina	Doporučení
Netypicky vysoké KTJ s některými matricemi, jako je listová zelenina a fermentované mléčné výrobky.	Některé typy vzorků přirozeně obsahují vysoké hladiny nukleotidů, které mohou zvýšit výsledky KTJ.	Kontaktujte nás pro pomoc s přizpůsobením převodu RLU na KTJ a nastavením limitů přístroje pro vaši matrici vzorků.
Netypicky nízké KTJ s hustými, neprůhlednými nebo tmavými matricemi vzorků, jako je neředěné mléko nebo čokoláda.	Rušení detekce světla může být způsobeno pohlcovacím efektem matrice vzorku.	Na pomnožení použijte jeden z typů MicroSnap Enhanced Broth v 9 ml lahvičkách. Podrobnosti viz Dodatek.

Kalibrace a kontroly

Doporučuje se provádět pozitivní a negativní kontroly podle zásad správné laboratorní praxe. Hygiene nabízí následující kontroly: CalCheck LED Calibration Verification Device (kat.č. CALCHECK)

Skladování a trvanlivost

- Skladujte při 2 až 8 °C.
- Nepoužívejte po uplynutí doby expirace na štítku.

Likvidace

Před likvidací dezinfikujte. Přípravky MicroSnap lze dezinfikovat autoklávováním nebo roztokem chlornanu (neuzavřený přípravek namočte na 1 hodinu do 20% chlornanu). Poté mohou být umístěny do koše. Alternativně mohou být přípravky MicroSnap zlikvidovány v zařízení na likvidaci biologického odpadu.

Bezpečnostní opatření

- Komponenty přípravků MicroSnap nepředstavují při správném používání žádné zdravotní riziko. Použité přípravky vykazující pozitivní výsledky mohou představovat biologické nebezpečí a měly by být bezpečně zlikvidovány v souladu se správnou laboratorní praxí a předpisy o ochraně zdraví a bezpečnosti (viz pokyny k likvidaci výše).
- Vyhňte se dlouhodobému vystavení světlu.
- Přípravky jsou navrženy pro jednorázové použití. Nepoužívejte znovu.

Opatrnost a zodpovědnost uživatele

- Přípravky MicroSnap nebyly testovány se všemi možnými potravinářskými produkty, potravinářskými procesy, testovacími protokoly nebo se všemi možnými kmeny skupiny koliformů.
- Pouze pro použití in vitro. Není určeno pro diagnostické postupy.



- Stejně jako u každého testu založeného na kultivačním médiu, ani výsledky MicroSnap nepředstavují záruku kvality produktu.
- Žádné jednotlivé kultivační médium neobnoví stejný kmen nebo nepomnoží konkrétní kmen stejným způsobem jako jiné médium. Výtěžnost mohou ovlivnit další vnější faktory, jako je metoda odběru vzorků, testovací protokol a manipulace.
- Odběr vzorků by měl být prováděn asepticky, aby se zabránilo křížové kontaminaci.
- Je na odpovědnosti uživatele, aby při výběru testovací metody vyhodnotil dostatečný počet vzorků.
- Ověřte správnou inkubační teplotu a čas pro aplikaci testu.
- Inkubační doba bude 6 hodin \pm 10 minut pro kvantitativní výsledky (počty) nebo 8 – 24 hodin pro kvalitativní výsledky (přítomnost/nepřítomnost), jak je specifikováno ve výše uvedených pokynech, pokud vám tým R&D společnosti Hygiena neurčil jinak pro vlastní aplikace, které vyžadují různé inkubační doby (nebo teploty).
Poznámka: V kvalitativních validačních studiích AOAC RI PTM byly vzorky inkubovány po dobu 8 hodin \pm 10 minut.
- Zajistěte správné ředění vzorku, aby bylo možné vzorky odečítat v dynamickém rozsahu luminometru.
- Při testování více sériových ředění musí být všechna ředění připravena a testována do 10 minut od sebe, aby se získaly lineární výsledky.
- Při testování replikátů ze stejného pomnoženého vzorku musí být všechny replikáty provedeny do 10 minut od sebe, aby byly získány srovnatelné výsledky.
- Při provádění srovnávacího testování musí být testy vzorků zahájeny do 10 minut od sebe, aby byly výsledky mezi metodami srovnatelné.

Odpovědnost

Společnost Hygiena ani její distributoři nenesou odpovědnost vůči uživateli ani jiným osobám za jakoukoli ztrátu nebo poškození, ať už přímou nebo nepřímou, náhodnou nebo následkem použití těchto produktů. Pokud se prokáže, že výrobek je vadný, bude jejich jedinou povinností výrobek vyměnit nebo dle vlastního uvážení vrátit kupní cenu. Bezodkladně informujte Hygienu do 5 dnů od zjištění jakéhokoli podezření na závadu a vraťte výrobek Hygieně. Prosím kontaktujte zákaznický servis pro autorizační číslo vráceného zboží.

Kontakty

Pro více informací navštivte www.atptest.cz nebo www.hygiena.com.

Hygiena International Ltd. Unit E, 3 Regal Way Watford, Herts. WD24 4YJ United Kingdom Tel: +44 1923 818821 Fax: +44 1923 818825 Web: www.hygiena.com	SKA-TEC spol. s r.o. Vánková 888/5 181 00 Praha 8 Česká republika Tel: (+420) 284 682 044 E-mail: skatec@skatec.cz Web: www.atptest.cz Web: www.skatec.cz
--	---

Performance Testing MethodsSM is a service mark of AOAC International.

Dodatek: Pomnožení náročných matric pomocí MicroSnap Enhanced EB Broth nebo MicroSnap Enhanced Nutrient Broth

MicroSnap Enhanced Broth obsahuje 9 ml unikátního kapalného média určeného k růstu aerobních a fakultativních mikroorganismů při současném zvýšení produkce biomarkerů a specifických enzymů pro diagnostiku koliformních bakterií a E. coli a zajišťuje snížení interference vzorků. Bujóny jsou určeny pro aplikace vyžadující detekci bakterií v náročných vzorcích potravin, jako jsou neprůhledné tekuté suspenze (viz tabulka 1).

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth je médium k přímému použití, kompatibilní s detekčními přípravky MicroSnap Total (MS2-TOTAL), MicroSnap Coliform (MS2-COLIFORM) a MicroSnap E. coli (MS2-ECOLI). MicroSnap Enhanced EB Broth je médium k přímému použití, kompatibilní s detekčními přípravky MicroSnap EB (MS2-EB), MicroSnap Coliform (MS2-COLIFORM) a MicroSnap E. coli (MS2-ECOLI). Pokyny v této příloze se týkají pomnožení mléka, neprůhledných roztoků a dalších náročných vzorků potravin pro testování koliformních bakterií a E. coli. Pro pomoc s vývojem protokolu pro vaši matrici, včetně úpravy inkubačních teplot pomnožení, kontaktujte Hygienu a požádejte o radu.

Důležité tipy před začátkem testu

- Použití bujónů Enhanced Broth v 9 ml lahvičkách není zahrnuto v certifikaci AOAC RI PTM.
- Před použitím vizuálně zkontrolujte kapalinu v lahvičce. Tekutina by měla být čirá a světle slámové barvy, ne zakalená.
- Použijte permanentní marker k identifikaci vzorku na štítku lahvičky.

KROK 1: Pomnožení s použitím MicroSnap Enhanced Broth

Postup pomnožení je popsán níže a také zobrazen na diagramech.

- 1) Odeberte a připravte vzorek s použitím aseptické techniky
 - a) Kapalně vzorky - Přeneste 1 ml vzorku přímo do lahvičky s bujónem.
 - b) Pevně vzorky produktů - Přeneste 1 ml vhodné suspenze ve sterilním médiu přímo do lahvičky s bujónem.
- 2) Lahvičku pevně uzavřete víčkem
- 3) Protřepejte nebo vortexujte 10 vteřin, aby se obsah důkladně promíchal.
- 4) Inkubujte v termostatu nebo inkubátoru Hygiene 6 nebo 8 hodin, v závislosti na typu vzorku a požadované citlivosti (tabulka 5).

Tabulka 5. Inkubační doba, teplota a potenciální dynamický rozsah

Inkubační doba*	Rozsah KTJ	Enhanced Nutrient Broth		Enhanced EB Broth
		Mléko	Kapalné nebo pevné potraviny	Mléko, kapalné nebo pevné potraviny
		32 ± 0,5 °C	30 ± 0,5 °C	37 ± 0,5 °C
6 h ± 10 min	50 - log 6	Počet	Počet	Počet
8 h ± 10 min [†]	<5 - 5.000	Přítomnost / Nepřítomnost	Přítomnost / Nepřítomnost	Přítomnost / Nepřítomnost

* Inkubační doby mimo uvedený rozsah nebyly validovány.

† Inkubační dobu při testování přítomnosti/nepřítomnosti lze prodloužit až na 24 hodin.

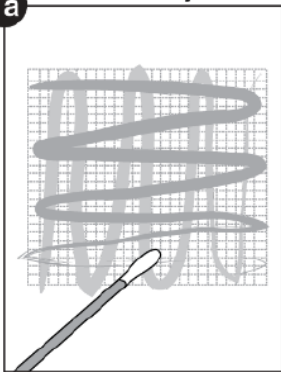
KROK 2: Detekce

Postupujte podle instrukcí k detekci, jak jsou uvedeny výše v návodu.

Přípravky MicroSnap Coliform&E.coli Enrichment Device a Coliform / E.coli Detection Device

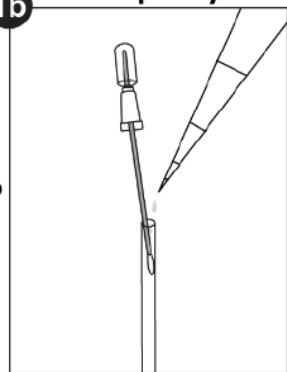
KROK 1: Pomnožení vzorku

- 1a Povrchy**



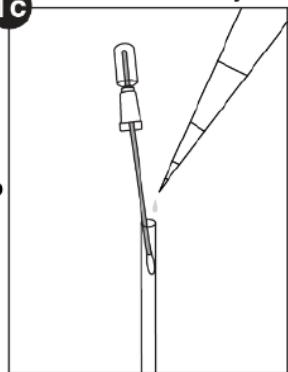
1a. Povrchy: Setřete plochu 10x10 cm přípravkem Enrichment Device ohřátým na pokojovou teplotu*

1b Kapaliny



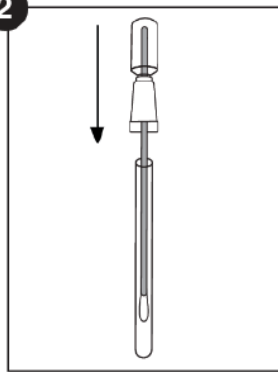
1b. Kapaliny: Nadávkuje 1 ml kapalné potraviny, nápoje nebo vody přímo do Enrichment Device PT

1c Pevné vzorky

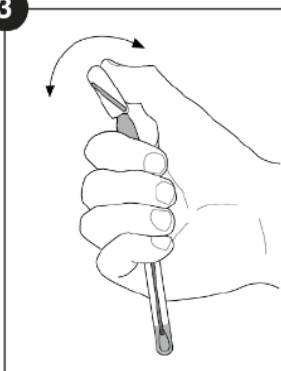


1c. Pevné vzorky: Nadávkuje 1 ml suspenze 10% w/v přímo do Enrichment Device PT

2

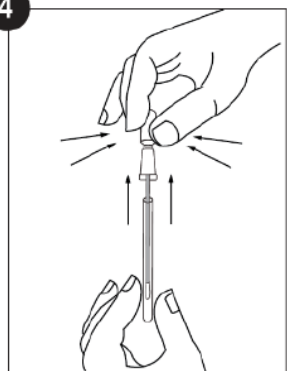


2. Vraťte stěr s ampulí zpět do tuby.
- 3**



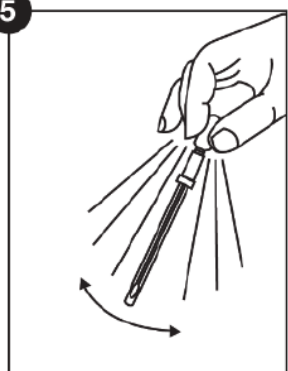
3. Aktivujte přípravek zlomením lámacího ventilu

4



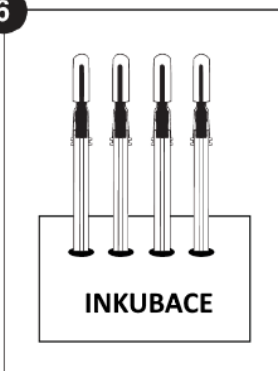
4. Vytáhněte stěr (3-5 cm) a stiskněte ampuli, aby se kapalina dostala na dno tuby

5



5. Zasuňte stěr zpět a lehce protřepejte, aby se vzorek promíchal s kapalinou.

6

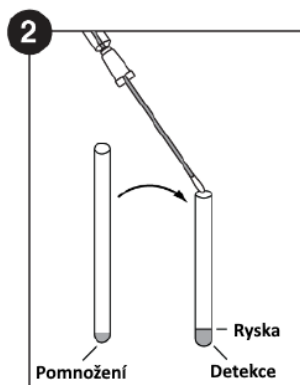


6. Inkubujte při $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 6 h ± 10 min (kvantitativní) nebo 8 h ± 10 min (kvalitativní)

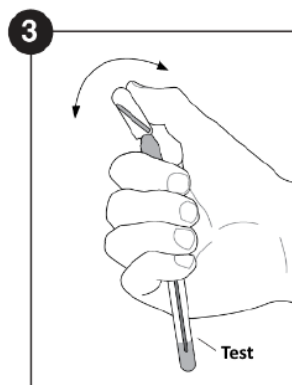
KROK 2: Detekce nebo měření



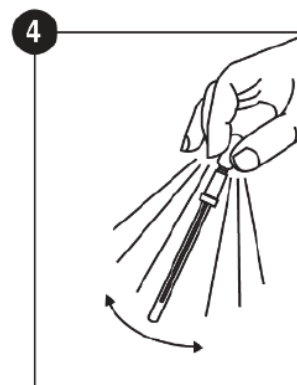
1. Nechejte detekční přípravek ohřát na pokojovou teplotu*. Sklepněte kapalinu na dno tuby.



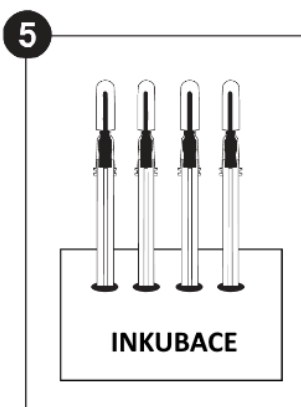
2. Asepticky přeneste 2 kapky (0,1 ml) pomnoženého vzorku z pomnožovacího přípravku do detekčního přípravku.



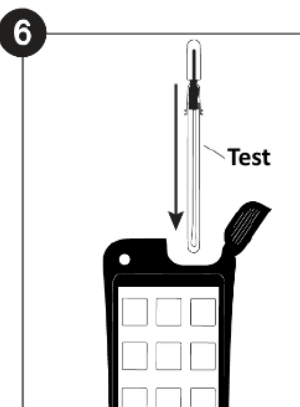
3. Aktivujte detekční přípravek zlomením lámacího ventilu. Stiskněte ampuli, aby se reagent dostal dolů do tuby.



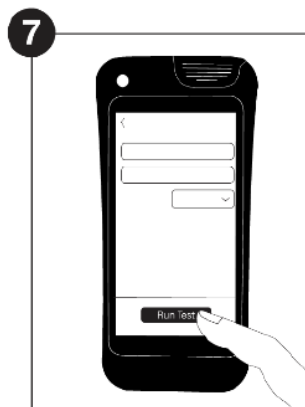
4. Přípravek lehce protřepejte, aby se vše promíchalo.



5. Inkubujte detekční přípravek $10 \pm 0,2$ min při $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$



6. Vložte test do EnSURE Touch, ikona MicroSnap. Vyberte zadaný vzorek, nebo zvolte Rychlý test. Klepněte na Změřit



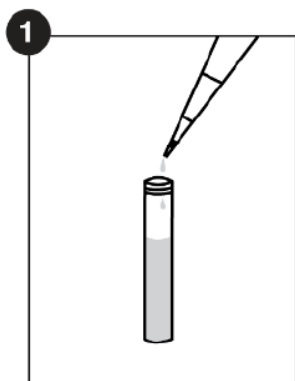
7. EnSURE Touch automaticky uloží změřený výsledek[†] a přenese ho do SureTrend Cloud (je-li přístroj propojen).

* Pokojová teplota = 20-25 °C

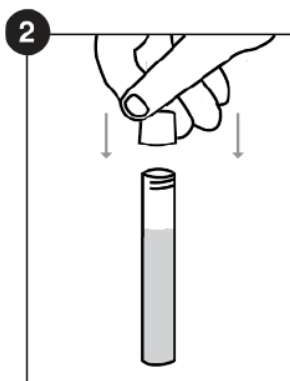
† Pokud je test na koliformy pozitivní, můžete zjistit přítomnost E.coli pomocí detekčního přípravku na E.coli a nového alikvotu z pomnožovacího přípravku.

MicroSnap® Enhanced Broth a MicroSnap Detection Device (není certifikováno AOAC RI PTM)

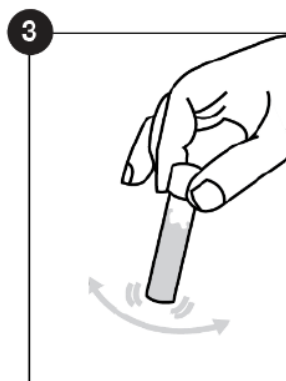
KROK 1: Pomnožení vzorku



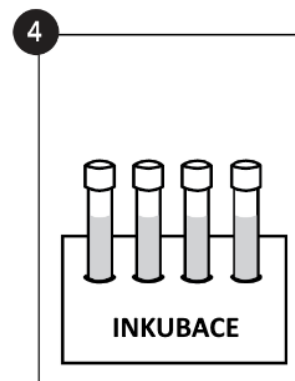
1. Nechejte vzorek a bujón ohřát na pokojovou teplotu. Nadávkujte 1 ml vhodného ředění do lahvičky Enhanced Broth.



2. Uzavřete lahvičku víčkem.



3. Protřepejte nebo vortexujte 10 vteřin.

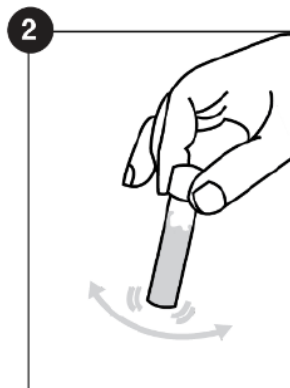


4. Inkubujte vhodnou dobu při vhodné teplotě, podle typu vzorku. Viz tab. 4.

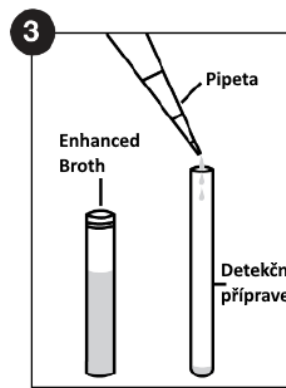
KROK 2: Detekce nebo měření



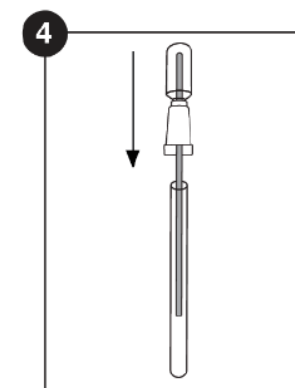
1. Nechejte detekční přípravek ohřát na pokojovou teplotu. Sklepněte kapalinu na dno tuby.



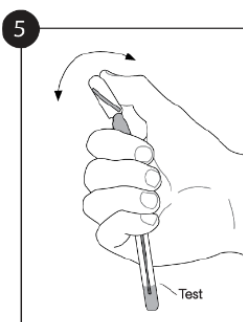
2. Protřepejte nebo vortexujte 10 vteřin.



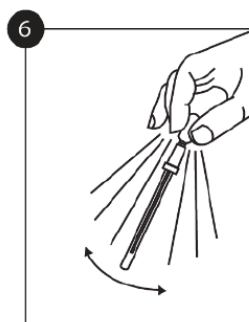
3. Asepticky přeneste 0,1 ml pomnoženého vzorku do detekčního přípravku.



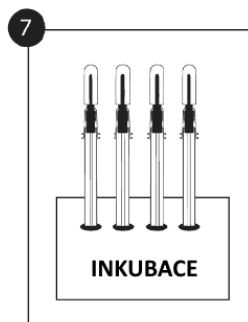
4. Zasuňte ampuli zpět do tuby.



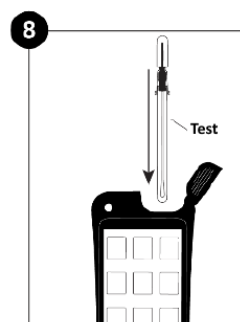
5. Aktivujte detekční přípravek zlomením lámacího ventilu. Stiskněte ampuli, aby se reagent dostal dolů do tuby.



6. Přípravek lehce protřepejte, aby se vše promíchalo.



7. Inkubujte detekční přípravek 10 ± 0,2 min při 37 ± 0,5°C



8. Vložte test do EnSURE Touch, ikona MicroSnap. Vyberte zadaný vzorek, nebo zvolte Rychlý test. Klepněte na Změřit



9. EnSURE Touch automaticky uloží změřený výsledek a přenese ho do SureTrend Cloud.