

MicroSnap™ Total

Rapid Total Microbial Activity Test

Required Parts:

Step 1: MicroSnap Total Enrichment Device, MS1-TOTAL (QTY 100)

Step 2: MicroSnap Total Detection Device, MS2-TOTAL (QTY 100)



Beschreibung:

MicroSnap Total ist ein schneller Biolumineszenztest für die Detektion und Auszählung der gesamten Population überlebensfähiger Bakterien in einer Probe. Ergebnisse liegen innerhalb von 7 Stunden vor. MicroSnap Total besteht aus einem Anreicherungsbesteck, das Wachstumsmedien enthält sowie einem Detektionsbesteck mit bioluminogenen Reagenzien. Nach Kontakt mit Bakterien werden Biomarker produziert, deren Menge mit einem kleinen tragbaren Luminometer gemessen werden.

Die in zwei Schritten ablaufende Testprozedur benötigt eine kurze Inkubationszeit, die das Bakterienwachstum, gefolgt von einem Detektionsschritt, ermöglicht. Während der Inkubation im Anreicherungsmedium steigt die Bakterienanzahl und die Probeninterferenz wird reduziert. Wenn Bakterien wachsen, nutzen sie im Medium vorhandene Nahrungsressourcen und generieren Biomarker. Je größer die Bakterienanzahl in der Probe ist, umso höher liegen Biomarkerkonzentration und Lichtproduktion. Ein Teil der angereicherten Probe wird in das Detektionsbesteck gegeben, aktiviert, gemischt und in einem Luminometer gemessen. Die Lichtemission ist direkt proportional zur vorhandenen Bakterienkonzentration.

Anwender:

Laborpersonal, das in den mikrobiologischen Standardtechniken ausgebildet ist, ist für die Durchführung von MicroSnapTotal qualifiziert.

Verwendungszweck:

MicroSnap Total eignet sich für die Messung metabolisch lebensfähiger aerober Bakterien in Nahrung, Flüssigkeiten und auf Oberflächen. Die Methode wurde durch das Programm AOAC *Performance Tested Methods*SM (PTM) bewertet. Lesen Sie für Details das Zertifikat AOACRI PTM #031501.

Einschränkungen:

Die MicroSnap Total Methode beruht auf der Erhebung von ATP als primärem Messwert. MicroSnap Total wurde nicht mit jeglichen möglichen Produkten ausgewertet. Beachten Sie das Kapitel *Verantwortlichkeit des Nutzers*.

Es ist wichtig, dass die Proben bei der Anwendung mit MicroSnap eine Raumtemperatur (18- 25 °C) erreicht haben.

Inkubationen von Proben direkt aus 4°C Kühlung werden aufgrund des Zeitabstands bis zum Erreichen der 30°C Inkubationstemperatur zu niedrige Werte erbringen.

Es ist wichtig, dass alle Medien oder Verdünnungen, die mit MicroSnap angewandt werden, frei von Biolumineszenzhemmern sind. Inhibitoren im Medium und in Verdünnungen sind der Hauptgrund für die meisten erfolglosen Nachweise. Hygiene empfiehlt die unten aufgelisteten Verdünnungen.

Empfohlenes Material (Nicht enthalten):

- Inkubator bei 30 ± 0.5 °C
- EnSURE Luminometer (Part No.: ENSURE)

Für Produktproben:

- Verdünnungsmittel
 - gepuffertes Peptonwasser
 - Maximum Recovery Diluent
 - Butterfields
- Probenbehälter
- Ausstattung zur Homogenisierung
- Pipette und Spitzen für 1mL

Anleitung:

Instruktionsvideo: www.youtube.com/HygieneTV

Schritt 1: Anreicherung

Der Anreicherungsprozess wird unten beschrieben und in Schritt 1 des Diagramms dargestellt.

1. Entnehmen Sie die Probe und geben Sie diese in das MicroSnap Total Anreicherungsbesteck. (Part # MS1-TOTAL) Als Probe können Sie verwenden:
 - i. Oberfläche – wischen Sie eine 10 x 10 cm große Fläche ab, oder, bei einer unregelmäßigen Oberfläche, so viel der Fläche wie möglich, um eine repräsentative Probe zu erhalten.

- ii. Flüssigkeit - 1mL flüssige Lebensmittel, Getränke oder Wasserproben werden direkt in das Anreicherungsbesteck gegeben.
- iii. Produkt - 1mL geeignete Lösung, z.B. 10% w/v (Gewicht/ Volumen) Lebensmittel-Homogenat direkt in das Anreicherungsbesteck. Nahrungs-Homogenat sollte durch Auswiegen von 10g oder 50g Nahrungsnährboden vorbereitet und in einen Verschlussbeutel mit 90ml oder 450ml Flüssigkeit gegeben werden. (*Beachten Sie: Maximum Recovery Verdünnung wurde in der Studie AOAC PTM bewertet*). Für eine unbekannte Probenkontamination sollten Verdünnungen mit Konzentrationen unter 10% durch Hinzufügen von 10ml aus einer 10%igen Lösung in 90ml einer frisch verdünnten Lösung in stärkere Verdünnungen umgewandelt werden. Das gleiche wird mit 1% und 0,1% der Probe gemacht. Falls wiederholte Proben nötig sind, dann sollten nochmals 10g oder 50g von der Hauptmenge entnommen werden und die Verdünnungsserien sollten wiederholt werden. Wiederholte Messungen können durch Herstellen vieler aliquoter 1ml Verdünnungen von jeweils 10%, 1%, 0,1%, abhängig von den RLUs, durchgeführt werden. *Beachten Sie: Wenn Sie Methoden vergleichen wollen, müssen die Proben innerhalb von 10 Minuten aktiviert werden, um zwischen verschiedenen Methoden vergleichbare Ergebnisse zu erzielen. Entnommene Proben können bei 4°C für bis zu zwei Tage gelagert werden, müssen aber vor der Messung wieder Raumtemperatur annehmen.*

2. Geben Sie den Tupfer zurück in das Röhrchen. Das Test-Besteck sieht genauso aus, wie bei der ersten Entnahme aus dem Alu-Beutel.
3. Aktivieren Sie nun das Anreicherungsbesteck durch Brechen des Knickverschlusses, indem Sie mit Daumen und Zeigefinger den Bulbus vor und zurück biegen.
4. Den Tupfer von dem Röhrchenboden etwa 3-4 cm anheben und den Bulbus gut ausdrücken, um die gesamte Flüssigkeit auf den Boden des Röhrchens zu entleeren. Versichern Sie sich davon, dass der Großteil der Anreicherungsflüssigkeit auf den Grund des Röhrchens gelangt.
5. Das Tupferstäbchen wieder fest in das Röhrchen schieben, um das Testbesteck zu verschließen.
6. Das Röhrchen sanft schütteln, um die Probe mit der Anreicherungsflüssigkeit zu vermengen.
7. Inkubieren Sie die Probe bei 30 ± 0.5 °C für 7 Stunden ± 10 Minuten.

Schritt 2: Detektion

Der Detektionsvorgang wird im Folgenden beschrieben und unter Schritt 2 in den Diagrammen dargestellt. Schalten Sie das EnSURE Luminometer an, bevor Sie mit Schritt 2 beginnen. Wenn die Messstellen festgelegt wurden, wählen Sie die zu testende Region aus.

1. Lassen Sie das MicroSnapTotal Detektionsbesteck (Teil # MS2TOTAL) Raumtemperatur annehmen (10 Minuten bei 22 – 26 °C) Das Testbesteck mehrmals an die Handinnenfläche antippen oder eine kräftige Schleuderbewegung nach unten hin ausführen. Dies lässt die Extraktionsflüssigkeit auf den Grund des Röhrchens gelangen.
2. Transfer der angereicherten Probe vom Anreicherungsbesteck in das Detektionsbesteck. Dabei wird der Tupfer des Anreicherungsbestecks ganz bequem als Pipette genutzt.
 - i. Der Probensatz im Röhrchenboden wird nochmal gemischt und dann in das hohle Röhrchen des Anreicherungsstäbchens gesaugt. Dies geschieht durch Eindrücken des Bulbus, der seine Form wieder einnimmt und dabei den Unterdruck bewirkt.
 - ii. Entnehmen Sie den Tupfer des Anreicherungsbestecks aus dem Röhrchen.
 - iii. Öffnen Sie das Detektionsbesteck durch Drehen und Ziehen, um den Bulbusstift aus dem Röhrchen zu heben. Röhrchen und Stift gesichert ablegen.
 - a. Die Tüpferspitze des Anreicherungsstäbchens etwa 3 cm in die Öffnung des Detektionsröhrchens einführen und den Bulbus sachte andrücken, um die angereicherte Probe in das Röhrchen zu tropfen, bis das Volumen der Füllmarkierung am Grund des Detektionsröhrchens erreicht. Vermeiden Sie es, übermäßig viel Probe oberhalb der Fülllinie einzufüllen, da dies zu einer erhöhten Abweichung der Testergebnisse führen kann.
 - iv. Verbliebene angereicherte Probe kann für weitere Tests wieder in das Anreicherungsbesteck gegeben werden.

MicroSnap™ Total

Rapid Total Microbial Activity Test

Required Parts:

Step 1: MicroSnap Total Enrichment Device, MS1-TOTAL (QTY 100)

Step 2: MicroSnap Total Detection Device, MS2-TOTAL (QTY 100)



v. Bringen Sie das Detektionsbesteck wieder in den ursprünglichen Zustand und geben sie es wieder in den Inkubator. *Beachten Sie: Beim Testen von Replikaten der gleichen angereicherten Probe müssen alle Messungen innerhalb von 10 Minuten durchgeführt werden damit Sie vergleichbare Ergebnisse erhalten.*

3. Aktivieren Sie das Detektionsbesteck durch Brechen des Knickverschlusses, indem Sie mit Daumen und Zeigefinger den Bulbus vor und zurück biegen. Drücken Sie den Bulbus 3x, um die gesamte Flüssigkeit auf den Grund des Röhrchens zu befördern.
4. Zum Vermischen sanft schütteln.
5. Geben Sie das gesamte Besteck unverzüglich ins Luminometer; schließen Sie den Deckel und halten Sie das Gerät aufrecht, drücken Sie die Taste „OK“, um die Messung zu starten. Das Ergebnis liegt nach 15 Sekunden Zählzeit vor.
6. Das Ergebnis wird in RLU (Relative Lichteinheiten) auf dem Display angezeigt. Stellen Sie die RLU Grenzwerte am Gerät korrespondierend mit den notwendigen CFU Grenzen ein.

Die Korrelation finden Sie im Abschnitt „Interpretation der Ergebnisse“.

Detektionsgrenzen:

Die Detektionsgrenze ist das niedrigste Level an überlebensfähigen aeroben Bakterien, die innerhalb eines Lebensmittelgemischs detektiert werden kann, wenn der Test korrekt und effizient durchgeführt wird. Das niedrigste Bakterienlevel, das detektiert werden kann, nimmt mit steigender Inkubationszeit ab. Nach 7 Stunden nähert sich das Detektionslevel 10 CFU pro ml Anreicherungsmedium; nach 8 Stunden sinkt dies auf 1 CFU pro mL. Die Fortsetzung dieser Stöchiometrie entspricht dem Baranyi-Roberts Modell des Bakterienwachstums in Nahrungsmitteln. Nach 7 Stunden Inkubationszeit geht der Zusammenhang zwischen CFU und RLU gegen 1 zu 1 oder $Y=X$. Nach 7 Stunden ist die dynamische Grenze von MicroSnap Total im EnSURE Luminometer proportional zur aktuell erreichbaren RLU Grenze im EnSURE Instrument. Ein niedriger Grenzwert von 10 RLU (<10 CFU/mL nach 7 Stunden) basiert auf dem natürlichen Hintergrund getesteter steriler Nahrungsmittel (RLU Durchschnitt plus 6 Standardabweichungen).

Tabelle 1: Dynamische Grenzen nach 7 Stunden Inkubationszeit

Probentyp	CFU Wert
Oberfläche	10-10,000 (CFU/Tupfer)
1mL Flüssigkeit	10-10,000 (CFU/mL)
10% w/v Suspension eines Feststoffs	100-50,000 (CFU/g)

Für Proben, deren Kontaminationslevel außerhalb der in der Tabelle 1 genannten Grenzen liegen, müssen die folgenden seriellen Verdünnungen gemacht werden, um auf dem Luminometer gelesen zu werden:

- 1% Suspension wird angezeigt als 1,000 – 500,000 CFU
- 0.1% Suspension wird angezeigt als 10,000 – 5,000,000 CFU
- *Beachten Sie: Beim Testen mehrerer serieller Verdünnungen müssen alle Verdünnungen simultan vorbereitet und getestet werden, um lineare Ergebnisse zu erzielen.*

AOAC PTM Auswertung:

Tabelle 2: AOAC PTM Auswertung in Korrelation mit der ISO Methode für verschiedene Lebensmittelsubstanzen

Nahrungssubstanz	Korrelation mit der ISO Methode (R ²)
Rohes Fleisch	0.771
Rohes Huhn	0.969
Salat	0.948
Sahnetorte	0.987
Rohe Milch	0.990

Die Nahrungsmatrices wurden in ihrem natürlichen Zustand getestet; kein Beimpfen mit Bakterien wurde durchgeführt und alle Proben lieferten ein messbares Ergebnis. Der Gebrauch echter Negative ist mit realen Nahrungsmittelproben schwierig durchzuführen, da Bakterien auch in niedrigen Levels immer vorhanden sind.

Der Gebrauch eines niedrigen Detektionsgrenzwerts von 100 CFU pro Gramm ist akzeptabel, wenn MicroSnap mit einer Inkubationszeit von 7 Stunden durchgeführt wird.

Es wurde gezeigt, dass die Methode gut mit der Methode der Internationalen Organisation für Standardisierung (ISO) korreliert. ISO 4833:2003, *Mikrobiologie von Nahrungsmitteln und Tierfutter– Grundlegende Methode zur Erfassung von Mikroorganismen – Technik der Kolonieauszählung bei 30 °C* (ISO 4833) (3) Die Bezugsmethode für die Auszählung von TVC.

Interpretation der Ergebnisse:

Die Ergebnisse werden auf dem Luminometer als Relative Lichteinheiten (RLU) angezeigt. Der numerische Output ist proportional zum ATP Gehalt, das von den wachsenden lebensfähigen Bakterien zur Zeit der Messung entnommen wurde. Diese ATP Konzentration ist wiederum proportional zu den inoculierten Bakterien, die in Kolonie bildenden Einheiten (CFU) ausgedrückt werden. Tabelle 3 zeigt nur die entsprechenden CFU Werte für die RLU Messung nach 7 Stunden Inkubation bei 30°C. Die Daten wurden von einer Anzahl verschiedener getesteter Nahrungsmittel in internationalen und AOAC Bewertungsstudien generiert.

Tabelle 3: Korrelation zwischen RLU und CFU bei 30 °C

RLU (EnSURE)	Entsprechender CFU Wert	
	Direkte Probe, z.B. 1 ml Flüssigkeit (oder Oberflächentupfer)	Typische 10% Suspension einer Feststoffprobe
<10	<10	<100/g
<20	<20	<200/g
<30	<30	<300/g
<50	<50	<500/g
<100	<100	<1,000/g
<1000	<1000	<10,000/g
>5,000	TNTC	TNTC

In dem Fall, dass mehrere Verdünnungen vorbereitet und für Proben mit unbekannter Kontamination getestet werden, wird der Wert in CFU/g oder ml durch Multiplikation des RLU Ergebnisses mit dem korrespondierenden Verdünnungsfaktor umgerechnet. Ein passender Microsoft Excel® Rechner zur Umrechnung der RLU in CFU ist bei Hygiene erhältlich.

Kalibrierung & Kontrollen:

Es ist ratsam, Positiv- und Negativkontrollen gemäß Güter Laborpraxis durchzuführen. Hygiene bietet die folgenden Gerätekontrollen an:

- o Kalibrierungskontrollset (Art. # PCD4000)

Lagerung & Haltbarkeit:

Bei 2-8°C lagern. Die Bestecke haben eine Haltbarkeit von 12 Monaten. Beachten Sie das Ablaufdatum auf dem Etikett.

Entsorgung:

Desinfektion vor dem Entsorgen. MicroSnap Testbestecke können per Autoklav oder durch Einweichen in 20%igem Bleichmittel für 1 Stunde desinfiziert werden. Dann können Sie zum Restmüll gegeben werden. Alternativ dazu können MicroSnap- Testbestecke bei einer Entsorgungsstelle für Bio-Gefahrgut abgegeben werden.

MicroSnap™ Total

Rapid Total Microbial Activity Test

Required Parts:

Step 1: MicroSnap Total Enrichment Device, MS1-TOTAL (QTY 100)

Step 2: MicroSnap Total Detection Device, MS2-TOTAL (QTY 100)



Sicherheit & Vorsichtsmaßnahmen:

1. Komponenten des MicroSnap Testbestecks stellen kein gesundheitliches Risiko dar, wenn sie korrekt angewandt werden. Benutzte Testbestecke, die positive Ergebnisse erzielen, können Gefahrgut sein und müssen sicher gemäß einer Guten Laborpraxis und gemäß geltender Gesundheits- und Sicherheitsregularien entsorgt werden. Das Detektionsbesteck wurde für die einmalige Anwendung hergestellt. Nicht wiederverwerten.
2. Testbestecke nicht nach dem Ablaufdatum verwenden.
3. Die Probennahme sollte aseptisch durchgeführt werden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
4. Die Ensure Probenverdünnung liegt innerhalb der dynamischen Grenzen des Luminometers.
5. Die richtige Ensure Inkubationszeit und –Temperatur werden in der Anleitung beschrieben.
6. Beim Testen mehrerer serieller Verdünnungen müssen alle Verdünnungen simultan vorbereitet und getestet werden, um lineare Resultate zu erzielen.
7. Beim wiederholten Testen der gleichen angereicherten Probe müssen alle Wiederholungen innerhalb von 10 Minuten durchgeführt werden, um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten.
8. Bei der Durchführung komparativer Tests müssen die Proben innerhalb von 10 Minuten durchgeführt werden, um Vergleiche zwischen verschiedenen Methoden zu ermöglichen.

Verantwortlichkeit des Nutzers:

1. MicroSnap Testbestecke wurden nicht mit allen möglichen Lebensmittelprodukten, Verarbeitungsverfahren, Testprotokollen oder allen möglichen Mikroorganismenstämmen durchgeführt.
2. Nicht zur Diagnostik bei Mensch und Tier geeignet.
3. Kein einzelnes Kulturmedium wird den gleichen Bakterienstamm wiederfinden oder einen speziellen Stamm aufzeigen wie ein anderes Medium. Andere externe Faktoren, wie Probennahme, Testprotokoll und Handhabung können die Untersuchung beeinflussen.
4. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, eine Methode zur Auswertung einer ausreichenden Anzahl an Proben auszuwählen.
5. Das Personal muss in der korrekten Technik der Testdurchführung geschult sein.

Hygiena Haftung:

Wie bei jedem Kulturmedium liefern die MicroSnap Total Ergebnisse keine Garantie für die Qualität von Lebensmitteln, Getränkeprodukten oder Prozessen, die mit diesem Testbesteck untersucht werden. Hygiena wird weder für den Anwender, noch für andere Personen für Verluste und Schäden, direkter oder indirekter Art, die während des Testvorganges oder infolge der Anwendung des Testbesteckes auftreten, haften. Falls dieses Produkt nachweislich defekt ist, so ist es Hygienas ausschließliche Pflicht, es zu ersetzen oder den Kaufpreis zu erstatten. Informieren Sie Hygiena unverzüglich innerhalb von 5 Tagen nach dem Auftreten jeglichen vermuteten Defekts und senden Sie das Produkt zurück an Hygiena. Bitte rufen Sie den Kundenservice an, um eine Autorisierungsnummer für die Warenrücksendung zu erhalten.

Kontaktinformation:

Falls Sie weitere Informationen wünschen, kontaktieren Sie uns:

Hygiena International Ltd
Phone: +44 1923 818821
Fax: +44 1923 818825
Email: info@hygiena.com
www.hygiena.com

Übersetzt und bearbeitet von
MEDOGEN Diagnostika
Ortsstraße 8, 86450 Altenmünster
Tel/Fax: 08295 2030 / 2040
Email: medogen@t-online.de
www.medogen.de

Instruktionsvideo:

www.youtube.com/HygienaTV

MicroSnap™ Total

Rapid Total Microbial Activity Test

Required Parts:

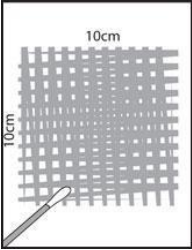
Step 1: MicroSnap Total Enrichment Device, MS1-TOTAL (QTY 100)

Step 2: MicroSnap Total Detection Device, MS2-TOTAL (QTY 100)



MicroSnap™ Total

Schritt 1 Anreicherung aus Oberflächenabstrichen, flüssigen und festen Proben

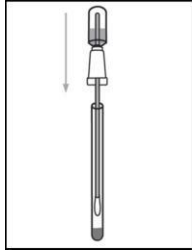
1.  **1. i. Oberfläche:** Mit dem MicroSnap Anreicherungstopfer einen Abstrich einer 10x10 cm großen Fläche oder mehr entnehmen.

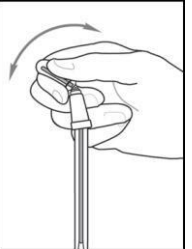
oder

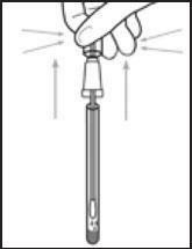
1. ii. **Flüssigkeiten:** Geben Sie 1ml Probe aus flüssigen Nahrungsmitteln, Getränken oder Wasser direkt in die MicroSnap Anreicherungsrohre.

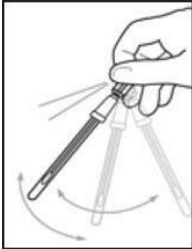
oder

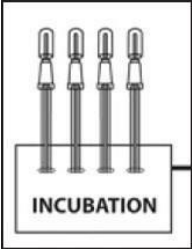
1. iii. **Feste Proben:** Geben Sie 1ml aus 10%iger G/Vol-Suspension aus festen Proben direkt in das Anreicherungsbesteck.

2.  **2.** Stecken Sie den Abstrichtupfer zurück in die Röhre

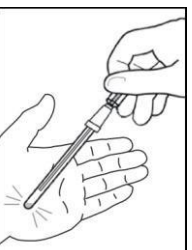
3.  **3.** Aktivieren Sie das Testbesteck. Biegen Sie den Bulbus ausdrücken des Knickverschlusses.

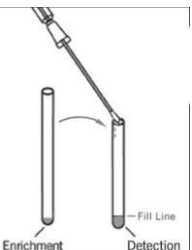
4.  **4.** Das Stäbchen etwa 3-5 cm aus dem Röhrchen ziehen, den Bulbus ausdrücken, damit die Flüssigkeit in den Röhrchenboden fließt. Das Stäbchen wieder fest in das Röhrchen drücken.

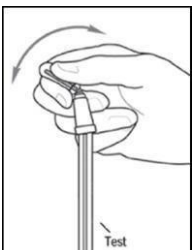
5.  **5.** Das Abstrichbesteck leicht schwenken, um die Probe mit der Flüssigkeit zu vermengen.

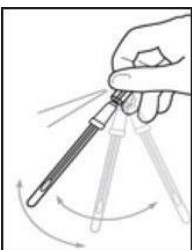
6.  **6.** Bei $30 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 7 Std ± 10 min inkubieren. Zu Step 2 gehen.

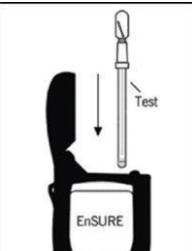
Schritt 2 Detektion / Messung


1.  **1.** Lassen Sie das MicroSnap Detektionsbesteck Raumtemperatur annehmen. Mehrmals an die Handfläche schnippen um die Flüssigkeit auf den Röhrchenboden zu bringen.

2.  **2.** Aseptisch 0,1 ml (etwa 3 Tropfen bis zur Markierung) der angereicherten Probe aus dem Anreicherungsröhrchen in das Detektionsröhrchen geben

3.  **3.** Aktivieren Sie das Testbesteck durch Brechen des Knickverschlusses. Drücken Sie den Bulbus, um den Großteil der Flüssigkeit auf den Boden des Röhrchens zu befördern.

4.  **4.** Das Testbesteck hin und her schwenken, um die Probe mit der Flüssigkeit aus dem Röhrchen zu vermischen.

5.  **5.** Geben Sie das Testbesteck ins Luminometer und starten Sie die Messung.

6.  **6.** Das Ergebnis kann in RLU auf dem Display abgelesen und mit der Tabelle in entsprechende CFU umgewandelt werden.