

MicroSnap EB (Enterobacteriaceae)

Schnelle Detektion von Enterobakterien

Artikelnummer: Anreicherungsbesteck, MS1-EB (100 Tests) & Detektionsbesteck, MS2-EB (100 Tests)

Beschreibung/ Anwendungshinweis:

MicroSnap EB (Enterobacteriaceae) ist ein schneller Biolumineszenztest für die Detektion und Auszählung von Enterobakterien, der innerhalb von 6 bis 8 Stunden Ergebnisse aus einer Probe liefert. MicroSnap EB besteht aus einem Anreicherungsbesteck mit Tupfer, das ein eigenes Wachstumsmedium enthält und einem Detektionsbesteck, welches biolumineszierende Reagenzien enthält, in denen durch Bakterien produzierte Biomarker mit Hilfe eines kleinen tragbaren Luminometers gemessen werden.

Der aus zwei Schritten bestehende Vorgang erfordert eine kurze Inkubationsdauer, die das Wachstum der Bakterien fördert, gefolgt von einem Detektionsvorgang. Während der Inkubation im Anreicherungsmedium steigt die Bakterienzahl und eine mögliche Probenbeeinträchtigung wird reduziert. Wenn die Bakterien sich vermehren, nutzen sie die im Medium vorhandenen

Nahrungsressourcen und generieren Biomarker. Je größer die Anzahl der Bakterien in der Probe ist, desto höher liegt die Konzentration der Biomarker und umso größer ist auch die Lichtproduktion. Ein Aliquot der angereicherten Flüssigkeit wird in das Detektionsbesteck gegeben, aktiviert, gemischt und in einem Luminometer gemessen. Die Lichtemission ist direkt proportional zur Konzentration der vorhandenen Bakterien. MicroSnap EB kann angewandt werden, um Oberflächen, Produktproben, Wasser und andere filtrierbare Flüssigkeiten zu testen.

Benötigte Materialien (Nicht enthalten):

- Inkubator bei $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ □
- EnSURE Luminometer für Produktproben:
- Verdüner, d.h.
 - gepuffertes Peptonwasser
 - M.R.D.-Verdüner
 - Butterfields
 - Andere validierte Flüssigkeiten der Wahl
- Probenahmebehältnisse
- Homogenisierungsequipment

Tabelle 1: Dynamischer Rang (Detektionsgrenzen)

Probentyp	CFU Rang
Oberfläche	0 – 5.000
1mL Flüssigkeit	0 – 5.000
10% w/v Lösung aus Feststoffen	0 – 50.000 (Bakterien/g)*

*Für Proben, in denen die Kontamination außerhalb des in Tabelle 1 dargestellten Bereichs liegt, müssen die folgenden seriellen Verdünnungen vorgenommen werden, um auf dem Luminometer abgelesen werden zu können:

- 1% Suspension wird zu 1.000 – 500.000 CFU
- 0.1% Suspension wird zu 10.000 – 5.000.000 CFU

Anleitung:

Einweisungsvideo: www.youtube.com/HygieneTV

Schritt 1: Anreicherung

Der Anreicherungsprozess wird weiter unten beschrieben und auch in Schritt 1 der Diagramme dargestellt.

1. Entnehmen Sie eine Probe und geben Sie diese in das MicroSnap EB Anreicherungsbesteck (Artikel # MS1-EB). Als Probe gelten:
 - i. Oberfläche: einen Abstrich nehmen von einer 10 x 10 cm großen Fläche oder - bei unregelmäßigen Oberflächen - so viel von der Oberfläche wie möglich, um eine repräsentative Probe zu erhalten.
 - ii. Flüssigkeit: 1mL flüssige Nahrungs-, Getränke- oder Wasserproben werden direkt in das Anreicherungsbesteck gegeben.
 - iii. Feststoff: 1mL einer geeigneten Suspension, i.a., 10% w/v (Gewicht/Volumen) Lebensmittelhomogenat wird direkt in das

Anreicherungsbesteck gegeben. Das Homogenat sollte unter Beachtung mikrobiologischer Standards erstellt werden. Bei unbekanntem Proben sollten Verdünnungen unter 10% angesetzt und getestet werden.

2. Geben Sie den Tupfer wieder in das Röhrchen zurück. Das Besteck sollte genau so aussehen, wie bei der ersten Entnahme aus der Packung.
3. Aktivieren Sie das Anreicherungsbesteck, indem Sie das Röhrchen fest halten und den blauen Stift unterhalb des Bulbus mit Daumen und Zeigefinger durch Hin- und Herschieben abbrechen.
4. Den Bulbus-Tupfer aus dem Röhrchen etwa 3-5 cm hoch ziehen und den Bulbus gut ausdrücken, um die gesamte Flüssigkeit auf den Boden des Röhrchens zu entleeren. Stellen Sie sicher, dass sich der Großteil des Anreicherungsmediums auf dem Boden des Röhrchens befindet.
5. Den Bulbus-Tupfer wieder fest ins Röhrchen drücken, um die Probe zu sichern.
6. Schütteln Sie das Röhrchen sanft, um Probe und Anreicherungsflüssigkeit zu vermischen.
7. Inkubieren Sie das Besteck bei $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ für 6 bis 8 Stunden. (weitere Details in Tabelle 2-4).

Schritt 2: Detektion

Der Detektionsprozess wird im Folgenden beschrieben und in Schritt 2 der Diagramme dargestellt. Bevor Sie mit Schritt 2 beginnen, schalten Sie das Luminometer ein. Falls die Messstellen einprogrammiert wurden, sind die zu testenden Programmpunkte im Luminometer anzusteuern.

1. Lassen Sie das MicroSnap EB Detektionsbesteck (Artikel # MS2-EB) auf Raumtemperatur erwärmen (10 Minuten bei $22 - 26 \text{ }^\circ\text{C}$). Schütteln Sie das Testbesteck entweder durch mehrfaches (ca. 5 mal) Antippen an die Handfläche oder durch ein/zwei schnelle und kräftige Abwärtsbewegungen. Dies befördert die Flüssigkeit auf den Grund des Röhrchens.
2. Transferieren der angereicherten Probe vom Anreicherungsbesteck in das Detektionsbesteck. Der Anreicherungstupfer kann hier bequemerweise als Pipette eingesetzt werden.
 - i. Bevor die Probe mit dem Bulbus hochgesaugt wird kurz durch Aufnahme und wieder Ausstoßen durchmischen.
 - ii. Entnehmen Sie den Anreicherungstupfer aus dem Anreicherungsrohrchen. Aseptisch sichern
 - iii. Öffnen Sie das Detektionsbesteck durch Drehen und Ziehen des Bulbus-Stäbchens. Aseptisch sichern.
 - a. Führen Sie den Anreicherungstupfer in das Röhrchen des Detektionsbestecks (ca. 3 cm) ein und drücken Sie den Bulbus des Anreicherungsbestecks leicht, um die angereicherte Probe bis zur Fülllinie am Boden des Detektionsbestecks einzufüllen. Vermeiden Sie übermäßiges Befüllen oberhalb der Fülllinie, da dies zu Abweichungen der Ergebnisse führen kann
 - iv. Das Detektionsbesteck wird wieder ins Röhrchen zurückgesetzt.
3. Aktivieren Sie das Detektionsbesteck durch Brechen des blauen Knickverschlusses, indem Sie mit Daumen und Zeigefinger den Bulbus vor- und zurückbiegen. Drücken Sie den Bulbuskopf dreimal, 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 auf „OK“, um die Messung zu starten. Das Ergebnis liegt nach 15 Sekunden vor.
6. Das Ergebnis wird in RLU (Relative Lichteinheiten) angezeigt. Die angezeigten RLU Grenzwerte des Geräts korrespondieren mit den verlangten CFU Werten. Die Korrelation finden Sie im folgenden Abschnitt.

MicroSnap EB (Enterobacteriaceae)

Schnelle Detektion von Enterobakterien

Artikelnummer: Anreicherungsbesteck, MS1-EB (100 Tests) & Detektionsbesteck, MS2-EB (100 Tests)

Interpretation der Ergebnisse:

Die Ergebnisse werden in Relativen Lichteinheiten (RLU) angezeigt. Die Lichtemission ist proportional zu dem Ausgangs-Inokulum und korrespondiert mit der entsprechenden Bakterienanzahl (ausgedrückt in Kolonie bildenden Einheiten, CFU). Die Tabellen 2-4 zeigen die entsprechenden CFU Werte für RLU Messungen bei unterschiedlichen Inkubationszeiten.

Tabelle 2: Korrelation von RLU und CFU nach 6 Stunden

EnSURE RLU	Äquivalente CFU	
	Direkte Probe, d.h. Oberfläche oder 1ml flüssige Probe	10% Suspension einer Feststoffprobe
<10	<50/mL	<500/g
<25	<120/mL	<1.000/g
<50	<250/mL	<2.500/g
<100	<500/mL	<5.000/g
<250	<1.200/mL	<12.000/g
<500	<2.500/mL	<25.000/g
<1.000	<5.000/mL	<50.000/g
>1.000	TNTC	TNTC

Tabelle 3: Korrelation von RLU und CFU nach 7 Stunden

EnSURE RLU	Äquivalente CFU	
	Direkte Probe, d.h. Oberfläche oder 1ml flüssige Probe	10% Suspension einer Feststoffprobe
<10	<5/mL	<50/g
<25	<12/mL	<100/g
<50	<25/mL	<250/g
<100	<50/mL	<500/g
<250	<120/mL	<1.200/g
<500	<250/mL	<2.500/g
<1.000	<500/mL	<5.000/g
>1.000	TNTC	TNTC

Tabelle 4: Korrelation von CFU zu RLU nach 8 Stunden

EnSURE RLU	Äquivalente CFU	
	Direkte Probe, d.h. Oberfläche oder 1ml flüssige Probe	10% Suspension einer Feststoffprobe
<10	abwesend	abwesend
<25	abwesend	abwesend
<50	abwesend	<25/g
<100	<5/mL	<50/g
<250	<12/mL	<120/g
<500	<25/mL	<250/g
<1.000	<50/mL	<500/g
>1.000	TNTC	TNTC

Wenn mehrere Verdünnungen vorbereitet und für Proben mit unbekannter Kontamination getestet werden, wird der Wert CFU/g oder ml durch Multiplikation des RLU Ergebnisses mit dem korrespondierenden

Verdünnungsfaktor erzielt. Ein gängiges Microsoft Excel® Kalkulationsprogramm ist für die Umrechnung von RLU in CFU erhältlich. Kontaktieren Sie einen Vertreter von Hygiene wegen weiterer Details.

Kalibrierungskontrolle:

GLP (Gute Labor Praxis) Standard ist es, Negativ- und Positiv-Kontrollen mit zu fahren. Hygiene bietet folgende Kontrollen an:

- Kalibrierungskontrollset (Artikel # PCD4000)
- Haltbarkeit ca. 5 Jahre

Lagerung & Haltbarkeit:

- Lagern bei 2-8°C
- Die Testbestecke haben eine Haltbarkeit von ca 12 Monaten. Beachten Sie das Ablaufdatum auf dem Etikett.

Entsorgung:

Vor der Entsorgung desinfizieren. MicroSnap Testbestecke können per Autoklaven oder eine Stunde langes Einweichen in 20% Bleichmittel desinfiziert werden. Dann erfolgt die Entsorgung in den Restmüll. Alternativ können MicroSnap Testbestecke in eine Entsorgungsanlage für Gefahrgut gebracht werden.

Sicherheit & Vorsichtsmaßnahmen:

Die Komponenten der MicroSnap Testbestecke stellen kein gesundheitliches Risiko dar, wenn sie korrekt verwendet werden. Benutztes Besteck mit einem positiven Ergebnis ist möglicherweise Gefahrgut und sollte sicher entsorgt werden, gemäß Guter Laborpraxis, sowie herkömmlicher Gesundheits- und Sicherheitsregularien. Verwenden Sie die Testbestecke nicht nach Überschreiten des Mindesthaltbarkeitsdatums.

1. MS-EB Detektionsbestecke wurden für eine einmalige Anwendung entwickelt. Nicht mehrfach verwenden
2. Testbestecke nicht nach dem Ablaufdatum verwenden.
3. Die Probenentnahme sollte aseptisch erfolgen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
4. Stellen Sie die richtige Verdünnung der Probe sicher, um sie per Luminometer einordnen zu können. (beachten Sie Tabelle 1).
5. Stellen Sie die korrekte Inkubationszeit und –Dauer für die jeweilige Testanwendung sicher.

Hygiene Haftung:

Wie bei jedem Kulturmedium liefern die MicroSnap EB Ergebnisse keine Garantie für die Qualität von Lebensmitteln, Getränkeprodukten oder Prozessen, die mit MicroSnap getestet werden. Hygiene wird weder für den Anwender, noch für andere Personen für Verluste oder Schäden direkter und indirekter Art, die während des Testvorgangs oder in Folge der Anwendung des Testbestecks auftreten, haften.

Falls dieses Produkt nachweislich defekt ist, so ist es Hygiene's ausschließliche Pflicht, es zu ersetzen oder den Kaufpreis zu erstatten. Informieren Sie Hygiene unverzüglich innerhalb von 5 Tagen nach dem Auftreten jeglichen vermuteten Defekts und senden Sie das Produkt zurück zu Hygiene. Bitte rufen Sie den Kundenservice an, um eine Autorisierungsnummer für die Warenrücksendung zu erhalten.

Kontaktinformation:

Falls Sie weitere Informationen wünschen, kontaktieren Sie uns:

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

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

Instruktionsvideo:
www.youtube.com/HygieneTV

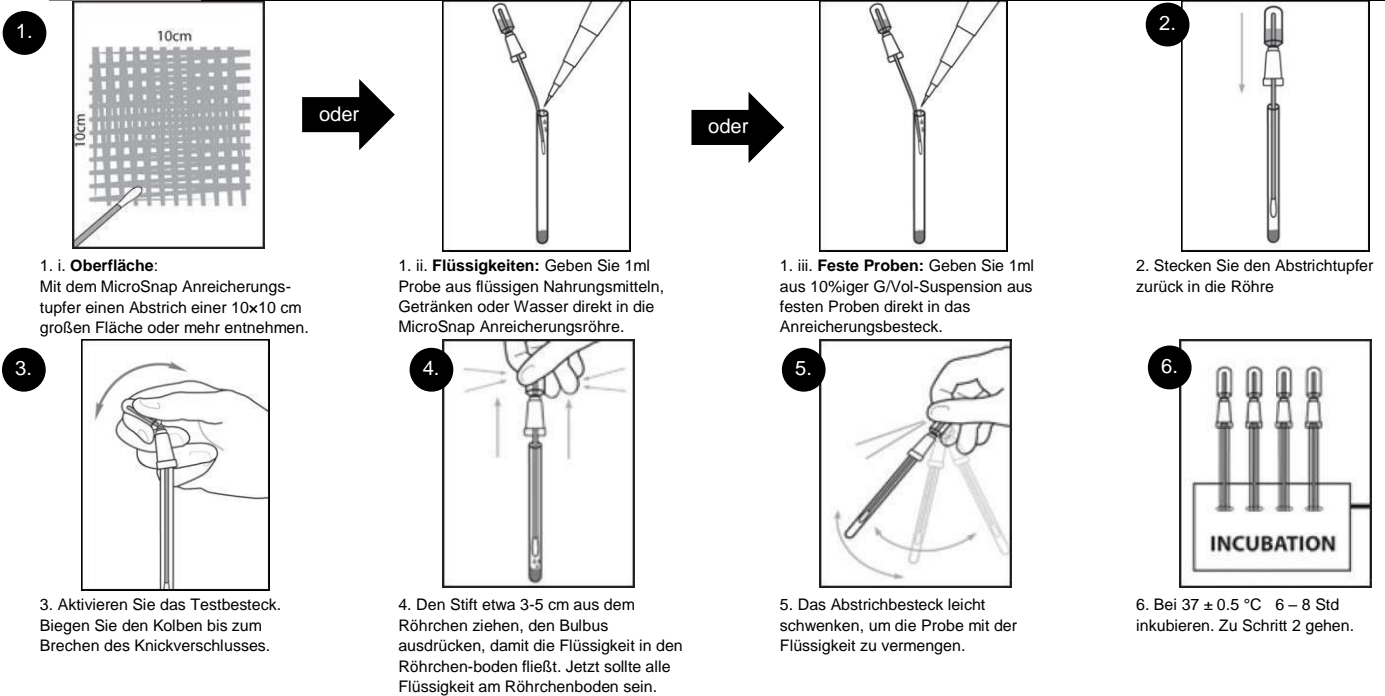
MicroSnap EB (Enterobacteriaceae)

Schnelle Detektion von Enterobakterien

Artikelnummer: Anreicherungsbesteck, MS1-EB (100 Tests) & Detektionsbesteck, MS2-EB (100 Tests)

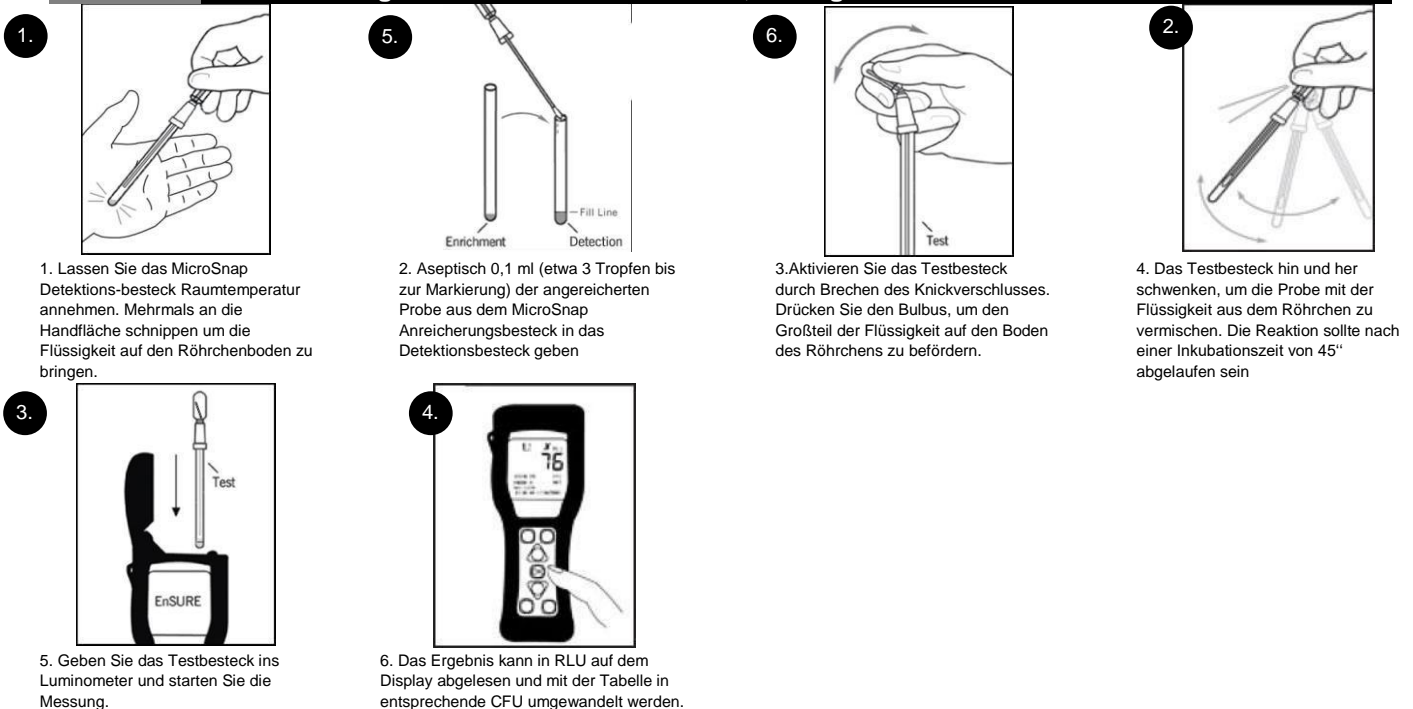
MicroSnap™ EB (Enterobacteriaceae)

Schritt 1 Anreicherung aus Oberflächenabstrichen, flüssigen und festen Proben



1. i. **Oberfläche:**
Mit dem MicroSnap Anreicherungstupfer einen Abstrich einer 10x10 cm großen Fläche oder mehr entnehmen.
1. ii. **Flüssigkeiten:** Geben Sie 1ml Probe aus flüssigen Nahrungsmitteln, Getränken oder Wasser direkt in die MicroSnap Anreicherungsrohre.
1. iii. **Feste Proben:** Geben Sie 1ml aus 10%iger G/Vol-Suspension aus festen Proben direkt in das Anreicherungsbesteck.
2. Stecken Sie den Abstrichtupfer zurück in die Röhre
3. Aktivieren Sie das Testbesteck. Biegen Sie den Kolben bis zum Brechen des Knickverschlusses.
4. Den Stift etwa 3-5 cm aus dem Röhrchen ziehen, den Bulbus ausdrücken, damit die Flüssigkeit in den Röhrchen-boden fließt. Jetzt sollte alle Flüssigkeit am Röhrchenboden sein.
5. Das Abstrichbesteck leicht schwenken, um die Probe mit der Flüssigkeit zu vermengen.
6. Bei $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 6 – 8 Std inkubieren. Zu Schritt 2 gehen.

Schritt 2 Anreicherung aus Oberflächenabstrichen, flüssigen und festen Proben



1. Lassen Sie das MicroSnap Detektions-besteck Raumtemperatur annehmen. Mehrmals an die Handfläche schnippen um die Flüssigkeit auf den Röhrchenboden zu bringen.
2. Aseptisch 0,1 ml (etwa 3 Tropfen bis zur Markierung) der angereicherten Probe aus dem MicroSnap Anreicherungsbesteck in das Detektionsbesteck geben
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. Das Testbesteck hin und her schwenken, um die Probe mit der Flüssigkeit aus dem Röhrchen zu vermischen. Die Reaktion sollte nach einer Inkubationszeit von 45" abgelaufen sein
5. Geben Sie das Testbesteck ins Luminometer und starten Sie die Messung.
6. Das Ergebnis kann in RLU auf dem Display abgelesen und mit der Tabelle in entsprechende CFU umgewandelt werden.