

拭子组成:

1. MicroSnap TOTAL 第一步拭子, 货号: MS1-TOTAL。
2. MicroSnap TOTAL 第二步检测拭子, 货号: MS2-TOTAL。

说明与用途:

MicroSnap TOTAL (细菌总数检测拭子) 是一种快速生物发光检测方法, 用于对不同种类样品中的细菌总数进行检测和计数, 检测结果可以在 7 小时内获得。MicroSnap TOTAL 由一支带有特定生长培养基的拭子和一支带有生物发光试剂的检测拭子所组成, 对目标菌所产生的生物标记信号 (光子) 可通过配套的便携式 EnSURE 荧光仪来测定。

检测需分两个步骤, 首先采用第一步拭子进行短时间的孵育来促进细菌的生长, 然后用检测拭子进行测定。在第一步拭子孵育期间, 细菌数量会增加, 而潜在的样品干扰会被降低。细菌生长过程中会产生具有酶活性的生物标记物, 细菌数量越多, 所产生的生物标记物浓度越高; 也就发出更多的光。将孵育后的样品光转送至检测拭子中, 经过拭子的激活、混合步骤, 然后在荧光仪上进行测量。光的输出量与生物标记物的浓度和所存在细菌的数量呈正比。

MicroSnap TOTAL 细菌总数检测拭子可用于检测环境表面、各类产品样品、水以及其它可过滤液体样本等。

需要但不提供的材料:

- 35±1℃ 的孵育器
- EnSURE 荧光仪
- 稀释液, 例如:
 - 缓冲蛋白胨水 (BPW)
 - 最大恢复稀释液 (MRD)
 - 磷酸盐缓冲液 (Butterfields)
 - 用户选择的其它验证过的稀释液
- 采样袋
- 均质器

表 1: 动态范围 (检测限):

| 样品类型 | CFU 范围 |
|--------------|------------------|
| 表面 | 10-10000 |
| 1ml 液体 | 10-10000 |
| 10% w/v 固体悬液 | 100-50000 (细菌/g) |

若某些样品的污染超出了表 1 中所列的范围, 则必须进行以下的梯度稀释才可在荧光仪上读数:

- 1% 悬液为 1000-500,000 CFU

- 0.1%悬液为 10,000-5,000,000 CFU
- *注意：当检测多个梯度稀释时，必须同时准备和检测所有的稀释液以获得线性结果。*

说明：

操作视频：www.youtube.com/HygieneaTV

步骤 1：孵育

孵育程序如下描述并可参照图表的步骤 1。

1. 采集样品并放置于 MicroSnap TOTAL 第一步拭子中（MS1-TOTAL）。

样品可以是：

- i. 表面——涂抹 4X4 英寸（10X10 厘米）的平面，对于不规则表面则尽可能大面积地采集有代表性的样品。
- ii. 液体——1ml 液体食物、饮料或水样可直接加到第一步拭子中。
- iii. 产品——1ml 合适的悬液，例如将 10% W/V（重量/体积）食物匀浆直接添加到第一步拭子中。食物匀浆的准备应按照标准微生物程序执行。对于未知的样品污染，应准备低于 10% 的稀释液进行检测。

注意：当进行对比实验时，两种方法的样品分析必须在 10 分钟内开始以获得可比性结果。

2. 将拭子重新插入拭子管中，恢复刚从拭子袋中取出时的样子。
3. 紧握拭子管并用拇指和食指前后弯曲球阀，折断顶部的 Snap-Valve 阀来激活拭子。
4. 轻提球阀（大约 1~2 英寸）以释放内压，然后挤压球阀将所有培养基释放到拭子管底部，确保大部分的培养肉汤集中在拭子管底部。
5. 将拭子重新插入拭子管中并旋紧密封。
6. 轻轻地摇晃管子，将样品和肉汤充分混合。
7. 在 $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 温度下孵育 7 个小时 ± 10 分钟。

步骤 2：检测

检测程序如下描述并可参照图表的步骤 2。在开始步骤 2 之前，先开启 EnSURE 荧光仪。若已经编程了检测位，可选择出要检测的检测位。

1. 将 MicroSnap TOTAL（MS2-TOTAL）检测拭子从冷藏条件下取出后室温放置 10 分钟。将拭子在手掌上轻拍 5 次或向下用力地敲打一次，使提取液流到管子底部。
2. 将孵育后的样品从第一步拭子中转移到第二步检测拭子中。第一步拭子可用作移液管，使用方便。

- i. 挤压并释放第一步拭子的球阀，使样品吸回到球阀中。然后将拭子从管子中取出。
- ii. 通过扭动并抽出球阀将第二步检测拭子打开，然后放在一边待用。

a. 将第一步拭子的拭子头插入第二步检测拭子管中（大约 1 英寸或 3 厘米），然后轻轻挤压第一步拭子球阀将增菌样品慢慢滴入管中直到容量达到检测拭子管上标记的填充线。避免添加样品超过填充线，因为这可能增加检测结果的变量。

- iii. 剩余的增菌样品可以返回到第一步拭子中用于其它检测。将第一步拭子重新装配至原始状态并放置于孵育器中。

注意：当检测来自同一孵育样品的重复样品时，所有的重复品必须在 10 分钟内进行以获得可比性的结果。

- iv. 将检测拭子重新装配至原始状态。

3. 紧握拭子管并用拇指和食指前后弯曲球阀，折断顶部的 Snap-Valve 阀来激活检测拭子。挤压球阀 3 次以释放所有的液体到拭子管底部。轻晃管子使其充分混合。

4. 立即将整个拭子插入荧光仪中，关闭盖子并保持直立，按下 OK 键开始测量。倒数 15 秒出结果。

5. 荧光仪显示屏上为 RLU（相对光单位）读数，在荧光仪上设置符合所要求的 CFU 限值的 RLU 临界值。参照以下“结果判定”对应表换算出 CFU 数值。

结果判定：

EnSURE 荧光仪显示的结果是相对光单位（RLU）。RLU 值与初始接种菌量呈正相关，并可与细菌数量（菌落形成单位，CFU）进行换算。下面表 2 中给出了 RLU 值与 CFU 值的对应关系。

表 2 RLU 与 CFU 的关系

| RLU (EnSURE) | 直接采样 例如 1ml 液体（或表面涂抹） | 典型的 10%固体样品悬液 |
|--------------|--------------------------|---------------|
| <10 | <10 | <100/g |
| <20 | <20 | <200/g |
| <30 | <30 | <300/g |
| <50 | <50 | <500/g |
| <100 | <100 | <1000/g |
| <1000 | <1000 | <10000/g |
| <5000 | 不可计数 | 不可计数 |

对于未知污染的样品准备和检测梯度稀释液时，将 RLU 读数乘以对应的稀释系数来计算每 g 或每 ml 的 CFU 值。RLU 读数与 CFU 换算可使用 Microsoft Excel 计算器。请联系 Hygiena 公司获取详细资料。

对照

可根据“良好实验室规范（GLP）”要求，在每次检测时设立阴阳性对照。Hygiena 公

公司提供以下仪器校准质控配件：

- 校准质控试剂盒（货号：PCD4000）

储存与保质期：

2~8℃条件下储存。拭子的保质期为 12 个月。请检查标签上的有效期。

废物处理：

处理前应消毒。可采用高压灭菌或用 20%漂白剂浸泡 1 小时，然后可当做一般垃圾丢弃。也可直接丢弃在生物危害垃圾处理设施中。

安全与注意事项：

1. 当正确使用 MicroSnap TOTAL 拭子时不会对人体健康造成任何危害。确定为阳性结果的拭子可能含有生物有害物，应按照“良好实验室规范”和“健康安全法规”等进行安全处理。
2. 不可使用过期的拭子。
3. 在无菌条件下进行采样，避免交叉污染。
4. 确保样品的稀释是在荧光仪的动态范围内。
5. 确保正确的孵育温度和时间。
6. 当检测多个梯度稀释液时，所有的稀释液必须被同时制备和检测以获得线性结果。
7. 当检测来自同一增菌样品的重复品时，所有的重复品必须在 10 分钟内进行以获得可比性的结果。
8. 当进行对比实验时，两种方法的样品分析必须在 10 分钟内开始以获得可比性结果。

法律责任：

和其它任何培养基一样，MicroSnap TOTAL 的结果并不能为食品、饮料产品或工艺提供质量担保。Hygiena 公司对使用者及他人因使用本拭子所发生的事故免责，包括直接的、偶然或附带的损失及伤害。如果此产品确被证实存在缺陷，Hygiena 唯一的义务是更换产品，或根据情况退还货款。若发现任何疑似缺陷，请在 5 日内立即告知 Hygiena 并退回产品。请向客服索要退货授权号码。

联系方式：

如需更多信息，请访问我们的官网 www.hygiena.com 或者联系我们：

Hygiena - Americas

Phone: 805.388.8007

Fax: 805.388.5531

Email: info@hygiena.com

Hygiena - International

Phone: +44 (0)1923 818821

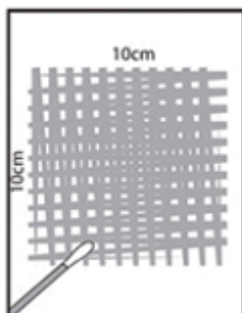
Fax: +44 (0)1923 818825

Email: enquiries@hygiena.com

MicroSnap Total

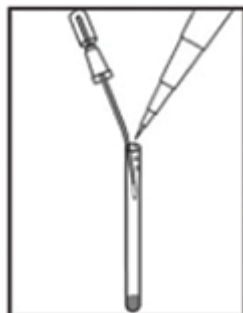
步骤 1 环境表面、液体和固体样品的增菌

A 表面



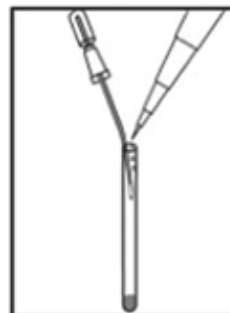
A1. 表面: 用 MicroSnap TOTAL 增菌拭子涂抹 10x10cm 或更大的面积。

液体样品



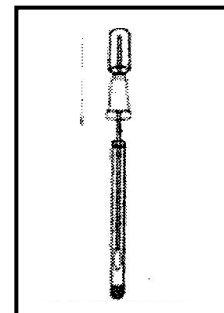
A2. 液体: 直接添加 1ml 的液体食物、饮料或水样到 MicroSnap TOTAL 增菌拭子中。

固体样品



A3. 固体样品: 将 1ml 的 10%w/v 的固体样品悬液直接添加到 MicroSnap TOTAL 增菌拭子中。

B



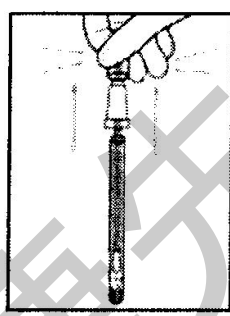
B. 将 Snap-Valve 球阀重新插入拭子管中。

C



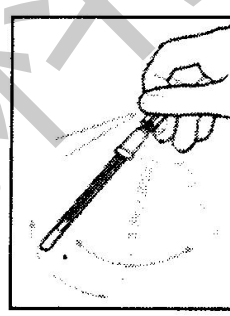
C. 激活拭子。弯曲球阀，折断 Snap-Valve 阀。

D



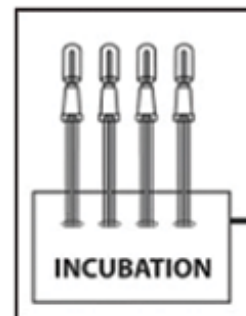
D. 上提球阀（大约 1~2"）并挤压以释放液体到管子中。释放球阀的内压，将球阀重新插入拭子管中。大多数的液体应集中于管子的底部。

E



E. 轻轻地摇晃管子将样品与管内液体充分混合。

F



F. 在 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 条件下孵育 7 个小时 ± 10 分钟。继续第 2 步。

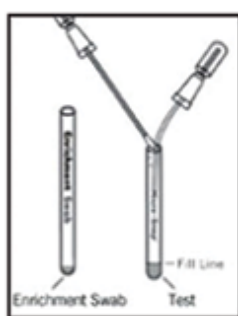
步骤 2 检测/测量

A



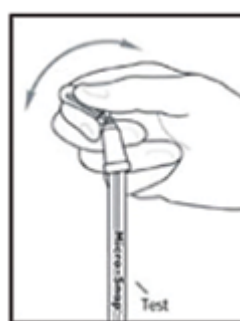
A. 将 MicroSnap TOTAL 检测拭子恢复至室温。在手掌上轻拍 5 次来晃动检测拭子，将液体集中到管子底部。

B



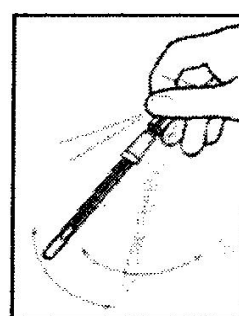
B. 在无菌条件下从增菌拭子中取出样品添加到检测拭子中。

C



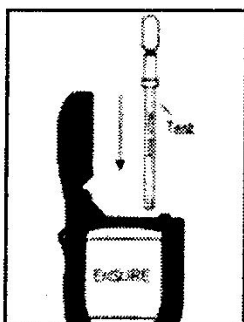
C. 激活检测拭子。折断 Snap-Valve 阀并挤压释放液体到管子中。液体应集中到管子底部。

D



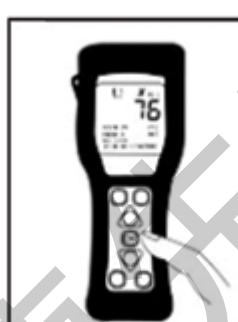
D. 轻晃管子，充分混合。激活后检测应在 45 秒内准备就绪。

E



E. 将检测拭子插入 EnSURE 荧光仪中并开始测量。

F



F. 记录检测结果 (RLU 值)。参看表 2 中的说明。