

## MicroSnap® EB (肠杆菌科)

用于：

### 富集的选择

- 产品编号：MS1-EB (MicroSnap® EB 富集装置)
- 产品编号：MS1-EB-BROTH-9ML (9 毫升小瓶装 MicroSnap 增强 EB 培养基)

### 检测

- 产品编号 MS2-EB (MicroSnap® EB 检测设备)

## 导言

### 说明和预期用途

MicroSnap® EB (肠杆菌科) 是一种快速生物发光检测方法，用于检测和计数样品中的肠杆菌科，可在 6 到 8 小时内得出结果。MicroSnap EB 由一个富集装置和一个检测装置组成，前者含有专有的生长培养基，后者含有生物发光试剂，使用 Hygiena® 公司生产的手持式荧光仪测量细菌产生的生物标记物。

两步检测程序需要一个短暂的培养期，然后是检测步骤。样品中的细菌数量越多，生物标记物的浓度就越高，光的输出就越大。将等分的样品转移到检测装置中，激活、混合并在荧光仪中测量。光输出与存在的细菌浓度成正比。

某些基质，如不透明的液体悬浮液或 pH 值极高的样品，可能需要稀释（见[重要提示](#)部分）。在这种情况下，我们提供含有专有 MicroSnap 增强 EB 培养基的 9 mL 小瓶来代替富集装置。

### 预期用户

经过标准微生物学实践培训的实验室人员有资格使用 MicroSnap EB 设备。

### 适用性

MicroSnap EB 可用于环境表面、产品样品、水和其他可过滤液体中的肠杆菌科计数检测。如果需要，MicroSnap EB 设备还可以提供相同基质的定性结果（无/有）。

### 所需材料（不提供）

- EnSURE® Touch 荧光仪（产品编号：ETOUCH）
- 干块培养箱（ $37 \pm 0.5$  °C）（产品编号：INCUBATOR 或 INCUBATOR2）
- 孵化器的区块选择：
  - 35 孔，用于拭子培养，选择 INCUBATOR2（产品编号：IB001）
  - 15 孔，用于9 毫升小瓶培养，选择 INCUBATOR2（产品编号：IB002）
  - 12 孔，用于拭子培养，选择 INCUBATOR（产品编号：IB003）
  - 6 孔，用于9 毫升小瓶培养，选择 INCUBATOR（产品编号：IB004）

### 测试产品样品时所需的材料（不提供）

- 样品袋
- 均质设备
- 1 毫升移液器和吸头
- 产品样本稀释剂选项：
  - 缓冲蛋白胨水
  - 最大回收稀释剂
  - 巴特菲尔德稀释剂
  - 无菌水

### 开始测试前的重要提示

- 对于可能需要稀释的样品（如不透明溶液；可能含有消毒剂、表面活性剂或其他抑制性化合物的样品），可使用 MicroSnap 增强 EB 培养基进行富集（详见[附录](#)和[图表](#)）。
- 产品样品在使用前可在 2 至 8 °C 下保存 2 天，但在使用 MicroSnap EB 测试样品前必须平衡至室温（20 至 25 °C）。
- MicroSnap EB 富集装置、MicroSnap 增强 EB 培养基和 MicroSnap EB 检测装置在使用前必须平衡至室温。
- 使用无菌技术：采集样本或转移富集样本时，不要用手指接触拭子或富集装置或样品瓶的内部。

## 测试程序

### 步骤 1：富集

富集程序如下所述，也可参见[步骤 1 的图表](#)。

1. 根据注意到的样品类型收集和制备样品：
  - a. 表面取样--使用预湿润的富集装置对 10 x 10 厘米（4 x 4 英寸）见方的区域进行取样。  
重要的拭抹技巧提示：
    - i. 施加足够的压力，使棉签轴弯曲。
    - ii. 以纵向、横向和对角线双向交叉的方式拭擦。
    - iii. 收集样本时旋转拭子，以最大限度地收集拭子尖端的样本。
    - iv. 对于不规则的表面，应确保每次测试的拭抹技术保持一致，并拭抹足够大的面积以收集有代表性的样本。
  - b. 液体样品-将 1 毫升液体或水样品直接转移到富集装置中。
  - c. 固体产品样品-将 1 毫升适当的悬浮液（如 10%w/v 的食物匀浆）直接转移到富集装置中。
    - i. 食物匀浆的制备方法是：称取 10 或 50 克食物基质，分别加入装有 90 毫升或 450 毫升稀释剂的胃袋中。
    - ii. 对于未知的样品污染，制备并测试 1:10 的序列稀释液（即 10%、1% 和 0.1%）。
    - iii. 如果需要重复样品，则应从基质中再取出 10 克或 50 克，然后重复稀释系列。根据所获得的 RLU，可从 10%、1% 或 0.1% 稀释液中提取多个 1 mL 等分样品进行重复。  
  
**注：**在进行对比测试时，样品检测必须在 10 分钟内开始，以便在不同方法间获得可比结果。
  - d. 将棉签重新装到棉签管上。装置的外观应与刚从袋中取出时一样。
2. 紧握拭子管，用拇指和食指前后弯曲球茎，掰开卡式阀，启动增菌装置。
3. 分开球茎和棉签管，直到棉签尖端位于液体上方，挤压球茎将所有培养基冲入棉签管。确保大部分培养基位于拭子管底部。
4. 将拭子重新牢固地连接到拭子试管上以密封装置，并轻轻摇动试管以混合样品和培养基。
5. 在  $37 \pm 0.5$  °C 下培养 6 小时  $\pm$  10 分钟，或 7 小时  $\pm$  10 分钟，得出定量结果（计数），或 8-24 小时，得出定性结果（无/有）（见表 1）。

## 步骤 2：检测

检测程序如下所述，也可通过图表（[MicroSnap Enrichment Device](#) 或 [MicroSnap Enhanced EB Broth Vial](#)）查看。

在开始步骤 2 之前，先打开荧光仪。如果您已经在荧光仪中对 MicroSnap 样品进行了编程，请打开要测试的样品的测试屏幕。

切记在使用前将 MicroSnap EB 检测设备平衡至室温（20 至 25 °C 下 10 分钟）。

1. 轻拍手掌 5 次或用力向下弹动 1 次，摇晃测试装置。

**注：**这是将液体带到试管底部所必需的，这将有助于富集样品与试管中的萃取剂混合。

2. 将 0.1 毫升（2 滴）富集样品无菌转移到检测装置中。

a. 对于 MicroSnap 增菌装置，可将内置滴管头用作移液管：

- i. 挤压并释放富集装置球阀，以混合并将样品吸入球阀。
- ii. 无菌打开富集装置和检测装置，扭转并拉动以取出球阀。
- iii. 将富集装置拭子尖端插入检测装置试管顶部 3 厘米（1 英寸）处，轻轻挤压富集装置球茎，将 2 滴富集样品转移到试管中。

**注：**试管上有一条加注线作为参考。不一致的转移量会增加测试结果的差异。

b. 用于 MicroSnap 培养基：

- i. 从培养箱中取出强化培养基，然后摇动或涡旋 10 秒钟以分散样品。
- ii. 无菌打开药瓶盖，通过扭转和拉扯打开检测装置，取出球阀。
- iii. 用无菌吸管将 0.1 毫升富集样品直接吸入检测装置试管中。

c. 将富集装置重新装配到原始状态，或重新装入样品瓶，并将样品放回培养箱，以备再次检测。

**注：**测试同一富集样本的重复样本时，所有重复样本必须在 10 分钟内完成，以获得可比结果。

3. 牢牢握住试管，用拇指和食指向前和向后弯曲球茎，掰开卡式阀，启动检测装置。挤压球茎 3 次，将所有液体释放到试管底部。
4. 轻轻摇晃 2 秒钟以混合。
5. 立即将整个设备插入荧光仪，盖上盖子，直立设备，按下按钮开始测量。
6. EnSURE Touch 荧光仪在 10 秒钟内以 CFU 为单位显示结果。

**注：**MicroSnap 样品可直接在光度计上编程或使用 SureTrend® 软件编程。

## 其他信息

### 潜在检测限

检测限是指在正确有效地进行检测时，在食品基质背景之上可检测到的需氧活菌的最低水平。

表 1.EnSURE Touch 荧光仪的潜在动态范围（检测限）。

样品类型	CFU 范围*		是否存在 CFU (富集：8 小时 ± 10 分钟) †
	富集：6 小时 ± 10 分钟	富集：7 小时 ± 10 分钟	
表面	10 - 200 000 CFU/拭子	10 - 10,000 CFU/拭子	0 (未检出) 1 CFU (注意) ≥2 CFU (存在)
液体 (1 毫升)	10 - 350,000 CFU/mL	10 - 10,000 CFU/mL	
固体悬浮液 (10% w/v)	100 - 3,500,000 CFU/g	100 - 50,000 CFU/g	

\* 稀释、孵育时间和基质类型等其他因素会改变表 1 所示的范围。如果样品污染超过了表 1 详细列出的范围，则应进行稀释，使污染在荧光仪的可检测范围内。例如

- 在 7 小时的培养过程中，1% 的悬浮液将产生 1,000 - 500,000 CFU。
- 0.1% 悬浮液在 7 小时的培养过程中会产生 10,000 - 5,000,000 CFU。

† 存在/不存在结果的孵育时间可延长至 24 小时。

### 结果解释

EnSURE Touch 荧光仪的结果以 CFU 为单位显示，提供定性（存在/不存在）和定量（CFU/g 或 CFU/mL）结果。

在对未知污染的样品进行多次稀释和测试时，CFU/g 或 CFU/mL 的计算方法是将 CFU 结果乘以相应的稀释因子。EnSURE Touch 荧光仪软件使用 AOAC 验证研究和内部测试生成的数据进行转换。

### 故障排除

表 2 提供了如何克服一些常见样本效应的指导。如需更多协议或矩阵支持，请通过 [www.hygiena.com/support](http://www.hygiena.com/support) 联系我们。

表 2.故障排除

观察	可能的原因	建议采取的行动
某些基质（如绿叶蔬菜）的 CFU 异常高	某些样本类型天然含有大量核苷酸，可增加 CFU 结果。	如需定制 RLU 到 CFU 的转换以及样品基质的仪器阈值水平，请联系我们。
浓稠、不透明或深色样品基质（如未稀释的牛奶或巧克力）的 CFU 异常低	样品基质的褪色效应可能会干扰荧光仪的光检测。	使用 MicroSnap 增强型 EB 培养基（9 mL 小瓶）进行富集。详见 <a href="#">附录</a> 。

## 校准和控制

建议根据《良好实验室规范》进行阳性和阴性对照。Hygiena 提供以下校准验证产品：CalCheck LED 校准验证装置（产品编号：CAL）。

## 储存和保质期

- 储存温度为 2 至 8 °C（36 至 46 °F）。
- 请勿超过标签上的有效期使用。

## 处理

弃置前进行消毒。MicroSnap 设备可通过高压灭菌或漂白（将未密封的设备浸泡在 20% 的漂白剂中 1 小时）进行消毒。然后将其扔进垃圾桶。或者，可将 MicroSnap 设备丢弃在生物危险废物处理设施中。

## 安全和预防措施

- 正确使用 MicroSnap 设备组件不会对健康造成任何危害。确认结果呈阳性的废旧装置可能会造成生物危害，应按照《良好实验室规范》和《健康与安全条例》进行安全处置（见上文的处置说明）。
- 请勿将 MicroSnap 设备用于诊断人类和动物的疾病。
- 与任何基于培养基的测试一样，MicroSnap 的结果并不构成对产品质量的保证。
- 避免长时间暴露在光线下。
- 设备和药瓶设计为一次性使用。请勿重复使用。

## 注意事项和用户责任

- MicroSnap 设备尚未针对所有可能的食品、食品加工过程、测试协议或所有可能的微生物菌株进行测试。
- 任何一种培养基都不会以与另一种培养基相同的方式回收相同的菌株或计数特定的菌株。其他外部因素，如采样方法、检测方案和处理方法，也可能影响菌株的回收率。
- *肠杆菌科*的估计值不能作为是否存在*沙门氏菌*的替代测量值。要调查是否存在*沙门氏菌*，应采用标准方法对食物或环境表面进行*沙门氏菌*检测。
- 采样应无菌进行，以避免交叉污染。
- 在选择测试方法时，用户有责任评估足够数量的样品。
- 确认试验应用的适当孵育温度和时间。

- 根据上述说明，定量结果（计数）的孵育时间为 6 小时 ± 10 分钟或 7 小时 ± 10 分钟，定性结果（存在/不存在）的孵育时间为 8 - 24 小时，除非 Hygiena 研发团队对需要不同孵育时间（或温度）的定制应用另有指示。
- 确保适当稀释样品，以便在荧光仪的动态范围内读取样品。
- 测试多个系列稀释液时，所有稀释液必须在 10 分钟内准备好并测试，以获得线性结果。
- 测试同一富集样本的重复样本时，所有重复样本必须在 10 分钟内完成，以获得可比结果。
- 在进行对比测试时，样品化验必须在 10 分钟内开始，以便在不同方法之间得出可比结果。

### Hygiena 责任

与任何基于培养基的测试一样，MicroSnap EB 的结果并不构成对使用这些设备测试的食品、饮料产品或工艺的质量保证。Hygiena 不对用户或其他人因使用这些设备而造成的任何直接或间接、附带或间接损失或损害负责。如果本产品被证明存在缺陷，Hygiena 的唯一义务是更换产品，或酌情退还购货款。如发现任何可疑缺陷，请在 5 天内及时通知 Hygiena，并将产品退回 Hygiena；请联系客户服务部获取退货授权号码。

### 联系信息

更多信息，请访问 [www.hygiena.com/contact](http://www.hygiena.com/contact)。如需技术支持，请访问 [www.hygiena.com/support](http://www.hygiena.com/support)。

## 附录：使用 MicroSnap 增强型 EB 培养基对复杂基质进行富集

MicroSnap 增强型 EB 培养基含有 9 mL 独特的液体培养基，用于培养需氧和兼性厌氧微生物，同时增强肠杆菌科生物标志物和特定酶的产生，并减少样品干扰。该培养基主要用于需要在具有挑战性的样品（如不透明液体悬浮液）中检测细菌的应用。

MicroSnap 增强型 EB 培养基是一种即用型培养基，与以下三种检测设备兼容：MicroSnap EB (MS2-EB)、MicroSnap 大肠菌群 (MS2-COLIFORM) 和 MicroSnap 大肠杆菌 (MS2-ECOLI) 检测设备。本说明书中的说明用于富集不透明溶液（例如牛奶）和其他具有挑战性的食品样品（例如香料）以检测肠杆菌科。如需帮助为您的基质制定协议，包括调整富集培养温度，请联系 Hygiena 获取指导。

### 开始测试前的重要提示

- 使用前目测小瓶中的液体。液体应为清澈的淡稻草色，不应浑浊或混浊。
- 用永久性记号笔在样品瓶标签上标明样品。

### 步骤 1：用 MicroSnap 强化营养培养基进行富集

富集程序如下所述，也可参见[步骤 1 的图表](#)。

1. 使用无菌技术采集和制备样本：
  - a. 液体样品-将 1 mL 样品直接加入小瓶增强 EB 培养基中。
  - b. 固体样品-将 1 毫升用无菌稀释液稀释的合适样品直接转移到强化 EB 培养基瓶中。
2. 更换并拧紧盖子。
3. 摇晃或涡旋 10 秒钟以混合内容物。
4. 根据所需的灵敏度，将小瓶放入 Hygiena 数字干块培养箱中， $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$  下培养 6 - 8 小时（表 3）。

表 3.  $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$  下的孵育时间和潜在动态范围。

培养时间*	CFU 范围	成果
6 小时 $\pm$ 10 分钟	500 - 250,000	计数
7 小时 $\pm$ 10 分钟	50 - 50,000	计数
8 小时 $\pm$ 10 分钟 <sup>†</sup>	<5 - 5,000	存在/不存在

\* 孵化期超出规定时间的计数尚未得到验证。

<sup>†</sup> 存在/不存在结果的孵育时间可延长至 24 小时。

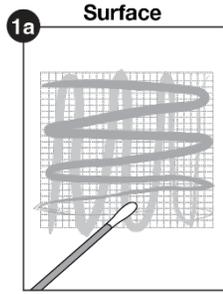
### 步骤 2：检测

按照上述说明进行[检测](#)。

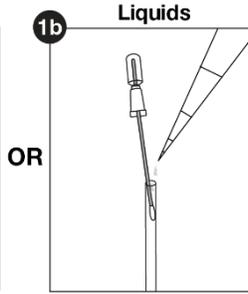


## MicroSnap® EB 富集和检测设备

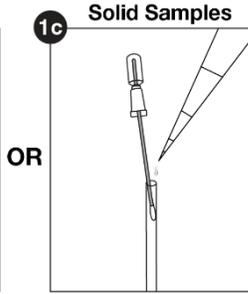
### 步骤 1：样品浓缩



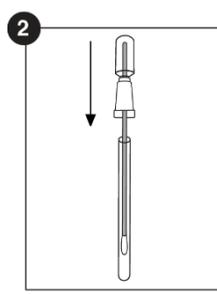
1a. 表面：用恢复至室温的\* (RT)浓缩装置的棉签沾取 10 x10 厘米面积。



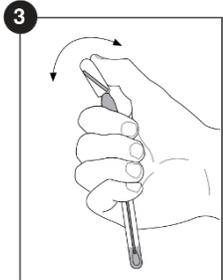
1b. 液体：1 毫升液态食物、饮料或水直加入 RT 富集装置。



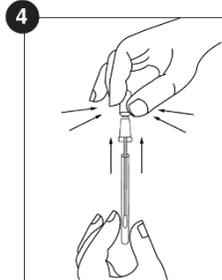
1c. 固体样品：1毫升 10% w/v 固体样品悬浮液直接加入 RT 富集装置。



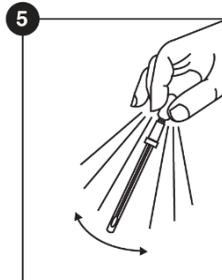
2. 将球阀放回棉签管中。



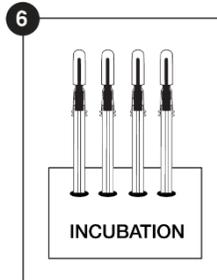
3. 启动设备。弯曲球阀，折断卡式阀。



4. 向上提起球阀 (1-2 英寸)，挤压以将液体释放到管底部。



5. 将球阀装入管内，轻轻摇动试管，使样品与液体混合。

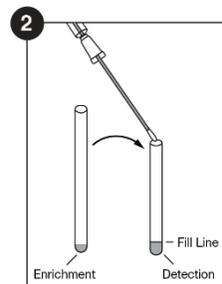


6. 在  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  下培养 6 或 7 小时  $\pm 10$  分钟 (定量) 或 8 - 24 小时 (定性)。

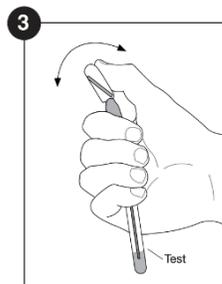
### 步骤 2：检测或测量



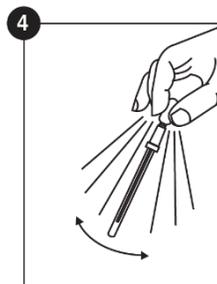
1. 平衡检测设备达到室温。摇匀使液体流至管底。



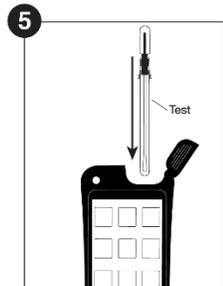
2. 从富集装置向检测装置无菌转移 2 滴 (0.1 毫升) 富集样品。



3. 启动检测设备 (测试)：方法是掰开快塞阀。挤压球阀将液体释放到管中。



4. 轻轻摇动试管以将样品混入液体中。



5. EnSURE® Touch、MicroSnap® 应用程序：如果样品已编程，选择样品；否则，选择**快速测试**。然后，按**运行测试**。



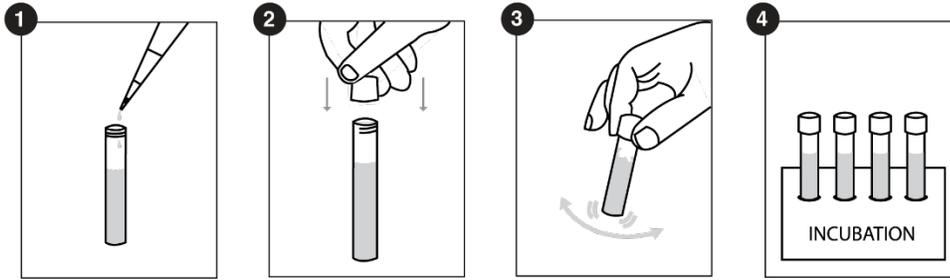
6. EnSURE 触摸自动保存结果无线注册和同步光度计到 SureTrend® 软件查看报告和数据集。

\* 室温 =  $20$  至  $25^\circ\text{C}$ 。



## MicroSnap® 增强型 EB 培养基和 MicroSnap 检测装置

### 步骤 1：样品浓缩



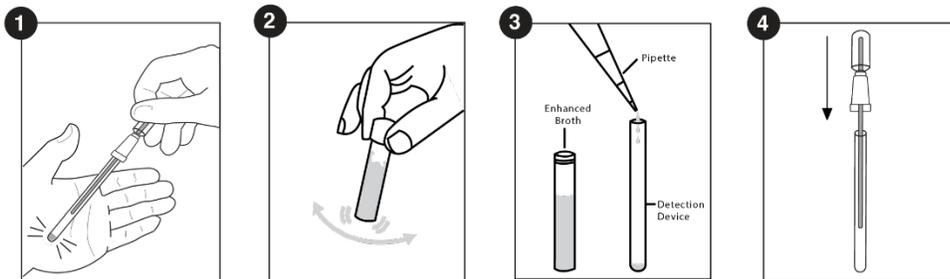
1. 平衡样品和EB 培养基，温度 20 至 25 °C。将 1 毫升样品加入强化 EB 培养基

2. 更换并拧紧帽子

3. 摇动或涡旋 10 秒

4. 在  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  下培养 6 或 7 小时  $\pm 10$  分钟（定量）或 8 - 24 小时（定性）。

### 步骤 2：检测或测量

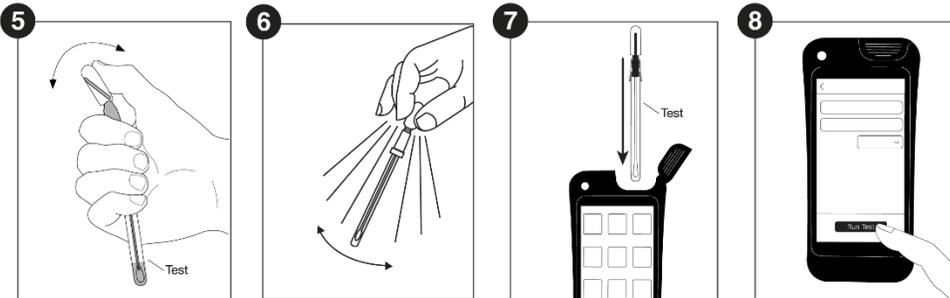


1. 平衡检测设备达到室温。摇匀使液体流至管底。

2. 摇动或涡旋 10 秒

3. 无菌转移将 0.1 毫升富集样品注入检测装置。

4. 重新组装检测器设备恢复到原始状态。



5. 掰断快塞阀，激活装置。挤压球茎，将液体释放到管中。

6. 轻轻摇动试管以将样品混入液体中。

7. 将设备插入 EnSURE® Touch。在 MicroSnap® 应用程序中：如果样品已编程，则选择样品；否则，选择**快速测试**。然后，按**运行测试**。

8. EnSURE 触摸自动保存结果。将光度计无线注册并同步到 SureTrend® 软件，以查看报告和数据集。